

**Proteinek fémkötőhelyeinek szerkezeti illetve funkcionális
modellezése nitrogéndonor ligandumok fémkomplexeivel**

Doktori (Ph.D.) értekezés

Jancsó Attila

Témavezető: Dr. Gajda Tamás

**Szegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék
Szeged, 2001**

Készült: a SOROS ALAPÍTVÁNY támogatásával

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés: az értekezés célkitűzései	1
2. A munka irodalmi háttere	3
2.1. Kismolekulájú ligandumok fémkomplexei, mint metalloproteinek szerkezeti modelljei	3
2.1.1. Imidazol- vagy piridingyűrűt tartalmazó ligandumok réz(II)- és cink(II)komplexei	3
2.1.2. Ón(IV)organikus kationok kölcsönhatása peptidekkel és peptidszármazékokkal	9
2.2. A foszfátészter-kötés hidrolízise	13
2.2.1. A foszfátészter-kötés hidrolízisének jelentősége az élő szervezetekben; foszfoészterázok csoportosítása és funkcióik	13
2.2.2. A foszfátészter-kötés hidrolízisének mechanizmusa; néhány foszfoészteráz enzim működése	13
2.2.3. Foszfoészterázok szerkezeti és funkcionális átmenetifém-komplex modelljei	18
3. Mérési módszerek és kísérleti körülmények	26
3.1. Egyensúlyi és szerkezetvizsgáló módszerek, mérési körülmények	26
3.1.1. pH-metria	26
3.1.2. Spektrofotometria	27
3.1.3. ESR- és NMR-spektroszkópia	27
3.1.4. Mössbauer-spektroszkópia	28
3.1.5. Röntgenkristallográfia	28
3.2. A kinetikai mérések elvi alapjai, módszerek és körülmények, modellszubsztrátok	29
3.2.1. Modellszubsztrátok	29
3.2.2. Az aktivált észterek vizsgálata (spektrofotometria)	30
3.2.3. A nemaktivált észterek vizsgálata (HPLC)	32
4. A tanulmányozott ligandumok és előállításuk	33
5. Eredmények és tárgyalásuk	36
5.1. Egyensúlyi és oldatszerkezeti vizsgálatok	36
5.1.1. A csak imidazolgyűrűt tartalmazó ligandumok és átmenetifém-komplexeik egyensúlyi és oldatszerkezeti vizsgálata	36
5.1.2. Imidazol- és piridingyűrű mellett aminocsoportot tartalmazó ligandumok és átmenetifém-komplexeik egyensúlyi és oldatszerkezeti vizsgálata	46
5.1.3. 1,3-diamino-2-propanol egységet tartalmazó ligandumok és átmenetifém-komplexeik	55
5.1.4. A glicin- <i>L</i> -aszparaginsav, <i>L</i> -aszpartil-glicin és szalicil-glicin dimetil-ón(IV)komplexei	66
5.2. Kinetikai vizsgálatok	81

5.2.1. A dimetil-ón(IV)ion és a foszfátészter-hidrolízis	82
5.2.2. Hidrolitikus mérések imidazol- és piridingyűrű mellett aminocsoportot tartalmazó ligandumok átmenetifém-komplexeivel	82
5.2.3. 1,3-diamino-2-propanol egységet tartalmazó ligandumok átmenetifém-komplexeinek hatása aktivált és nemaktivált foszfátészterek hidrolízisére	83
5.2.4. 1,3,5-tridezoxi-1,3,5-trisz(dimetil-amino)- <i>cisz</i> -inozitol átmenetifém-komplexeinek hatása nemaktivált foszfátészterekre	92
6. Összefoglalás	103
7. Irodalomjegyzék	17
Függelék	
1. A $[\text{Cu}_2(\text{bimidoH}_{-1})(\text{DPP})(\text{ClO}_4)(\text{CH}_3\text{OH})]\text{ClO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ komplex előállítása, szerkezete és a röntgenszerkezet-elemzés kristallográfiás adatai	F1
2. A $[\text{Zn}(\text{bimido})\text{Cl}]\text{NO}_3$ komplex előállítása, szerkezete és a röntgenszerkezet-elemzés kristallográfiás adatai	F3
3. A $\text{Cu}(\text{bpdpo})(\text{ClO}_4)_2$ komplex előállítása, szerkezete és a röntgenszerkezet-elemzés kristallográfiás adatai	F4
4. A $[\text{Cu}_2(\text{bpdpoH}_{-1})(\text{DPP})(\text{CH}_3\text{OH})(\text{ClO}_4)]\text{ClO}_4$ komplex előállítása, szerkezete és a röntgenszerkezet-elemzés kristallográfiás adatai	F6
Summary	F8
A disszertáció anyagához kapcsolódó és egyéb közlemények	F13
Köszönetnyilvánítás	

1. Bevezetés: az értekezés célkitűzései

Metalloproteinek fémkötő sajátosságainak, illetve a fémkötő helyek szerkezetének és működésének részletesebb megismeréséhez gyakori és általánosan elfogadott kis molekulatömegű modellligandumok illetve azok fémkomplexeinek tanulmányozása. A modellvegyületek kiválasztása kétféle szempont szerint történhet: (1) a ligandumok donorcsoportjai illetve az azok fémion-koordinációjával kialakuló geometria jól közelíti a modellezett protein fémkötőhelyeit (szerkezeti modellek), (2) a kismolekula fémkomplexe a metalloprotein által irányított/katalizált reakció(típus) lejátszódását képes elősegíteni, rendszerint a proteinnél jóval szerényebb hatásokkal (funkcionális modellek). Természetesen az ideális modellrendszerek mindkét szempontnak megfelelnek. A natív enzimek jelentősen nagyobb aktivitásának fő oka az, hogy a modellvegyületeknél a koordinálódó donorcsoportok tökéletes analógiája esetén sem találhatók meg a makromolekulák másodlagos-harmadlagos szerkezetéből fakadó egyéb szerkezetalkító-szerkezetstabilizáló kölcsönhatások. A fémionok a proteinekben rendszerint apoláris környezetben, úgynevezett hidrofób "zsebekben" találhatók (ez természetesen a közvetlen koordinációs szférára nem igaz), ugyanakkor a funkcionális vizsgálatok általában vizes közegben történnek, ahol gyakran nincs lehetőség az aktív centrum hidrofób környezetének szimulálására. A szerkezeti modellvizsgálatok túlnyomó többsége nemvizes közegből előállított szilárd komplexek szerkezetének meghatározását takarja.

Modellvegyületek alkalmazása a nyilvánvaló hátrányok mellett számos előnnyel is jár, melyek közül a legnyilvánvalóbb az, hogy a kisebb molekulák vizsgálata jóval egyszerűbb és olcsóbb, mint a natív makromolekuláké. A szerkezeti modellek tanulmányozása révén arról szerezhetünk ismereteket, hogy a fémion környezetében, a donorcsoportok minőségében és pozíciójában történő kisebb-nagyobb változások hogyan befolyásolják a fémion redoxi-, mágneses, spektrális vagy egyéb sajátosságait. A funkcionális modellek részletes vizsgálatai pedig elősegíthetik a kérdéses metalloprotein vagy enzim funkciójának, az aktív centrum működési mechanizmusának jobb megismerését. Adott esetben a modellvegyületeknek egyéb gyakorlati felhasználási lehetőségei is lehetnek, amint azt a későbbiekben valamivel részletesebben meg is említem.

A jelen munka során tanulmányozott modellligandumok dipeptidek vagy peptidszármazékok (glicil-*L*-aszparaginsav, *L*-aszpartil-glicin, szalicil-glicin) illetve kutatócsoportunk több éve folyó kutatásaihoz is kapcsolódva, imidazol- vagy az ahhoz sok szempontból hasonló piridingyűrűt tartalmazó ligandumok. A vizsgált vegyületek egy része az említett aromás gyűrűk mellett egyéb, pl. hidroxil- és/vagy aminocsoportot is tartalmaz. Az említett ligandumok mellett az 1,3,5-tridezoxi-1,3,5-triamino-inozitol dimetilszármazékát tanulmányoztuk.

A doktori munkám során a ligandumok különböző fémionokkal történő kölcsönhatását vizsgáltuk, melyekhez két átmenetifémiont (Cu^{2+} , Zn^{2+}) valamint egy, az előbbiektől alapvetően eltérő sajátosságú ónorganikus kationt, a dimetil-ón(IV) $^{2+}$ -t választottuk ki. A cink(II)- és réz(II)ionok esszenciális nyomelemek, számos metalloproteinben és enzimben kulcsfontosságúak, vizesoldatbeli vizsgálatuk (főként a réz(II) esetében, annak kedvező spektroszkópiái tulajdonságai miatt) viszonylag könnyűnek mondható. A rendkívül mérgező ónorganikus kationok (köztük a dimetil-ón(IV)ion) biológiai fluidumok, szövetek kismolekuláival való kölcsönhatásának

tanulmányozása fontos információkat nyújthat: (1) az ónorganikus kationok biológiai hozzáférhetőségéről, (2) oldatbeli speciációjukról és szerkezetükről, (3) a szervezeten belüli lehetséges átalakulásairól ill. (4) különböző biokémiai folyamatokat befolyásoló esetleges hatásaikról.

A doktori munkám eredményeit két tematikusan szétválasztott fejezetre bontva tárgyalom (5.1. és 5.2. fejezetek). Az 5.1. fejezet mutatja be a modellrendszerek egyensúlyi és oldatszerkezeti vizsgálatainak eredményeit. Az 5.2. szakasz hidrolitikus metalloenzimek egy nagy és fontos csoportjára, az úgynevezett foszfoészterázokra illetve azok aktív centrumának modellezésére koncentrál. Ezen kinetikai vizsgálatok jellegüket tekintve alapvetően eltérnek az oldategyensúlyi-oldatszerkezeti mérésektől, mely különválasztott tárgyalásukat indokolja. A kinetikai mérésekhez modellszubsztrátként különböző aktivált (bisz(4-nitrofenil)-foszfát, 2-hidroxipropil-4-nitrofenil-foszfát) illetve nemaktivált (2'-3'-ciklikus nukleotidok, dinukleotidok) foszfátésztereket alkalmaztunk.

A két fejezet kapcsán megfogalmazott célkitűzések természetesen nem választhatók el egymástól. Vizsgálatainkkal az alábbi célokat kívántuk megvalósítani:

- A kiválasztott rendszerek teljes oldategyensúlyi leírása, a képződő komplexek szerkezetének meghatározása. Ennek segítségével:
 - Újabb ismeretek szerzése arról, hogy a ligandumok kisebb-nagyobb szerkezeti különbségei hogyan befolyásolják a képződő komplexek szerkezetét és spektrális sajátosságait.
 - A dimetil-ón(IV)ion-peptid kölcsönhatás részletesebb megismerése.
- Kétmagvú komplexek kialakítására képes ligandumok előállítása révén foszfátészterek hidrolízisét jelentősen gyorsítani képes komplex vegyületek szintézise.
- A modellrendszerek kinetikai jellemzése modellszubsztrátokkal végzett kísérletek segítségével; a folyamatok formálkinetikai leírása.
 - A fentebbi vizsgálatok révén újabb ismeretekhez kívántunk jutni a foszfátészter-hidrolízis mechanizmusáról, és a fémionok szerepéről a folyamatban.

Méréseink során potenciometriás, spektrofotometriás, ESR-, NMR- és Mössbauer-spektroszkópiás, röntgenkrisztallográfiás valamint HPLC-technikákat alkalmaztunk.

2. A munka irodalmi háttere

2.1. Kismolekulájú ligandumok fémkomplexei, mint metalloproteinek szerkezeti modelljei

2.1.1. Imidazol- vagy piridingyűrűt tartalmazó ligandumok réz(II)- és cink(II)komplexei

Az imidazolgyűrű az esszenciális aminosav hisztidin oldallánci csoportjaként az élő szervezetben előforduló peptidek, fehérjék, metalloproteinek, enzimek sokaságában megtalálható. Számos speciális tulajdonsága (az aromás gyűrű π - d viszontkoordinációs képessége által is segített erős fémion-koordináció, protonálódási tautóméria, fiziológias tartományba eső pK) révén kiemelkedő szerepet tölt be metalloproteinek ill. enzimek működésében, pl. protontranszfer folyamatokban¹, oxigénszállítást², elektrontranszfert¹ illetve redoxi/hidrolitikus folyamatokat elősegítő enzimek³ aktív centrumában stb.

Az imidazol- vagy piridingyűrű(ke)t tartalmazó modellvegyületekben az aromás gyűrűkhöz kapcsolt különböző szubsztituensek révén a vegyületek sav-bázis sajátosságának, koordinációs képességének illetve szterikus tulajdonságának finom szabályozására van lehetőség. Ennek megfelelően a tanulmányozott ligandumok nagy többsége imidazol- vagy piridingyűrűk mellett egyéb potenciális donorcsoport(oka)t (pl. amino-⁴⁻⁸, hidroxil-⁸⁻¹¹, karboxil-¹², fenolos hidroxil-¹³, tiol/tioéter-^{7,14,15} vagy amidcsoport^{4,12,16,17}) is tartalmaz. Az egyéb donorcsoportok jelenléte természetesen jelentős mértékben befolyásolja a kérdéses ligandum fémion koordinációs képességét, így igen hasznosnak tűnik olyan ligandumok komplexképző sajátosságainak tanulmányozása is, melyek kizárólag az említett aromás egységeket, imidazol- vagy piridingyűrűket tartalmaznak^{4,12,18-22}. Itt kell megjegyezni azt is, hogy két-három hisztidin imidazolgyűrű jelenléte metalloproteinek aktív centrumában igen gyakori (így pl. a karboxipeptidáz A³, alkalikus-foszfátáz³, a cink-ujj proteinek²³ vagy a plasztocianin²⁴ centrumaiban) sőt, számos esetben a cink(II) vagy réz(II) centrumokhoz vízmolekulák mellett csak hisztidin oldalláncok koordinálnak (pl. a szénsav anhidráz³, amin-oxidáz²⁵, hemocianin²⁴). A szuperoxid-dizmutáz enzim réz(II)-cink(II) vegyes magvú aktív centruma egy további érdekes példát szolgáltat arra, hogy a természet milyen sokoldalúan használja ki szerkezetileg is az imidazol egységet. Az SOD aktív centrumában a cink(II)ionhoz koordinálódó aszpartát mellett három illetve négy His-imidazol kapcsolódik a cink(II)- és réz(II)ionokhoz, valamint a fémionokat imidazoláthíd köti össze²⁶.

Az eddig elmondottak ellenére meglehetősen kevés dolgozat foglalkozik olyan modellligandumokkal, melyek több (2-3) imidazolgyűrűt tartalmaznak. Ennek oka lehet az is, hogy a kapcsolt, biszimidazol egységet tartalmazó ligandumok fémkomplexei gyakorta redoxiérzékenyek illetve kis oldékonyságúak^{12,18}, s a leváló csapadék meggátolja a további vizsgálatokat. Az imidazolgyűrűk közelségének számottevő hatása van a gyűrűnitrogének pK-értékeire. Amennyiben a gyűrűk közvetlenül kapcsolódnak egymáshoz (biimidazol származékok), a nitrogének között kialakuló hidrogénhidas kapcsolat drasztikusan csökkenti azok bázicitását¹². Amennyiben a gyűrűket egy $-CH_2-$ csoport választja el, ez a hatás érzékelhetően kisebb. Ugyanakkor további szubsztituensek a metilén csoporton a pK-értékek alapvető megváltozását eredményezhetik^{9,12,18}. A réz(II)- vagy cink(II)ionokat is tartalmazó oldatokban elvégzett egyensúlyi mérések mono- és sok esetben biszkomplexelek képződését mutatták. A komplexekre kiszámítható bázicitással korrigált stabilitási állandók nem mutatnak jelentős különbséget a bisz-

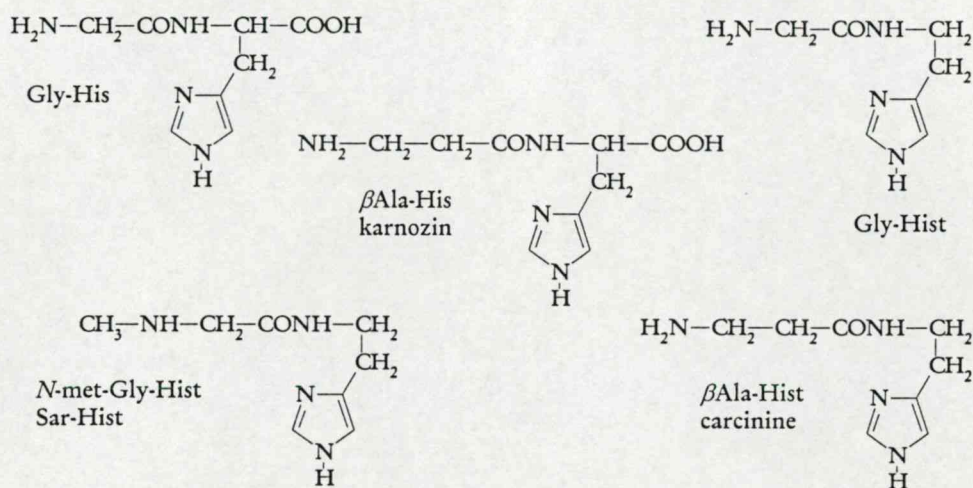
és biimidazol származékok között, annak ellenére, hogy a kelátgyűrűk tagszáma eltérő (hat illetve öt)^{9,12,18}. Bár ezen ligandumok peptidek és proteinek fémkötőhelyeinek ígéretes szerkezeti modelljei, a már fentebb vázolt problémák a kutatók mozgásterét meglehetősen leszűkítették, így kiterjedtebb vizsgálatok ezekben a rendszerekben nem történtek.

Természetesen a hisztidin oldallánc kiemelt jelentősége ellenére sem kizárólagos szerepű a peptidek, fehérjék réz(II)- és cink(II)ion megkötésében, illetve funkciójuk kifejtésében. Egyéb aminosav oldallánci donorcsoportok, így egyebek mellett a tirozin-OH (pl. galaktóz oxidáz²⁵), cisztein-SH (pl. plasztocianin²⁴, cink-ujj proteinek²⁷), aszpartát-COO⁻ (pl. alkalikus foszfatáz²⁸, foszfolipáz C) vagy glutamát-COO⁻ (pl. karboxipeptidáz, foszfolipáz C²⁸), szerin-OH (pl. alkalikus foszfatáz), valamint a terminális-NH₂ csoport és a peptidkötések amid nitrogénje (pl. a szérum albumin réz(II)ion megkötése²⁴) ugyancsak fontos szerepet töltenek be. Az ilyen szerkezeti egységek modellezésének egyik módja rövid láncú oligopeptidek, illetve módosított peptidek alkalmazása.

Gajda Tamás és kutatócsoportja immár egy évtizede foglalkozik imidazolgyűrűt tartalmazó peptidek és pszeudopeptidek illetve egyéb imidazolszármazékok átmenetifém-komplexeinek oldategyensúlyi és oldatszerkezeti vizsgálatával. Néhány peptidszármazék cink(II)komplexeinek tanulmányozása kapcsán teljes, részletes leírást adtak a ligandumokon lejátszódó protonálódási egyensúlyokról fémion távol- és jelenlétében egyaránt²⁹. Meghatározták az alternatív deprotonálódási folyamatokra vonatkozó mikroszkópikus állandókat, melyek segítségével a különböző protonálódási tautomerek arányai is megadhatók. A cink(II)komplexeek tanulmányozása rávilágított arra, hogy míg a szabad ligandumok esetében az N(1) pozícióban protonált tautomer a kedvezményezett, addig ez az arány fémion jelenlétében az ellenkezőjére fordulhat, vagyis gyakori a komplexekben az N(1)-fémkoordináció. A szabad ligandum N(1)H és N(3)H helyzetben protonált tautomer populációinak aránya nem a meghatározó tényező az imidazolnitrogének koordinációs sajátságaiban. Viszont az imidazolgyűrű melletti egyéb donorcsoportok helyzete és közelsége (pl. kisebb tagszámú kelátgyűrű kialakulása révén) befolyásolni tudja, hogy mely gyűrűnitrogén vesz részt a koordinációban.

Hisztamin tartalmú pszeudodipeptidek réz(II)-, nikkel(II)- és kobalt(II)komplexeinek vizsgálata fontos, új információkat szolgáltatott egyebek mellett a C-terminális karboxilát szerepéről (pl. a peptidnitrogén-deprotonálódásban), a csatolt kelátgyűrűk méretének hatásairól illetve az imidazolát-híd kialakulásának lehetőségéről³⁰⁻³². Néhány vizsgált peptidszármazékot mutat be az 1. ábra. A karnozin, carcinine és Gly-His réz(II)komplexeire vonatkozó aminocsoport és peptidnitrogén pK-értékek összehasonlítása rávilágít a karboxilcsoport stabilizáló szerepére^{30,33}. A karboxilát jelenléte és koordinációja a karnozin és Gly-His komplexében mind a két említett donorcsoport pK-jának jelentős csökkenését eredményezi a carcinine-hez képest. Ugyanakkor az N-terminális aminocsoport helyzete, vagyis a peptidnitrogén koordinálódásával kialakuló kelátgyűrű mérete is rendkívül fontos. Az {NH₂, N⁻_{amid}, N(3)_{im}} csoportok koordinálódásával {5,6} csatolt kelátgyűrűk alakulnak ki a Gly-Hist és Sar-Hist esetében, szemben a carcinine {6,6} gyűrűivel. Mindez a peptidnitrogén pK-jának 3-4 nagyságrendnyi csökkenését eredményezi (7,27: carcinine, 3,28: Gly-Hist). A legtöbb vizsgált peptidszármazék réz(II)- és néhányuk nikkel(II)komplexénél bázikus körülmények között oligonukleáris részecskék kialakulását tapasztalták a kutatók, ezek mennyisége természetesen koncentráció és fém-ligandum arány függő. A nikkel(II)-Gly-Hist és -Sar-Hist rendszerben

bizonyítani is sikerült az oligomer komplex szerkezetét. A tetramer részecskében a fémionokat a pirrolos (N(1) imidazolnitrogének deprotonálódása révén kialakuló imidazoláthidak kötik össze. (Bár ez a szerkezet csak az említett rendszerekben bizonyított, a Gly-His esetében is hasonló komplex képződését javasolták.) További érdekesség, hogy a carcinine-réz(II) rendszerben pH 8 körül, a ligandumfeleslegtől függő mennyiségben, a CuLH_2 összetételű részecske mellett négy ligandum egyfogó imidazol-koordinációjával CuL_4H_2 komplexek is képződnek.



1. ábra: Néhány di- és pseudopeptid szerkezete

N- vagy C-terminális pozícióban biszimidazol csoportot tartalmazó, míg a másik terminális helyzetben védett (BOC vagy O-Et) hisztidintartalmú tripeptidek réz(II)- és cink(II)komplexeinek vizsgálatakor úgy találták, hogy a biszimidazol egység a fő kötődési hely, emellett az oldallánci imidazolcsoportnak van még szerepe a komplexek szerkezetének kialakításában. Ugyanakkor a peptidnitrogének deprotonálódása, s így a fémion-koordinációban való részvétele gátolt^{17,18}.

Több kutatócsoport is foglalkozott a réz(II)ionokat szállító humán szérumalbumin fémion-kötési helyének modellezésével³⁴⁻³⁶. Sarkar és munkatársai glicil-glicil-L-hisztidin-N-metil-amid ligandumot alkalmaztak e célra^{34,35}. Mind egyensúlyi, mind röntgendiffrakciós vizsgálatok azt bizonyították, hogy a réz(II)ionhoz semleges közegben aminocsoport, két deprotonált amidnitrogén, valamint a hisztidingyűrű imidazolnitrogénje koordinálódik enyhén torzult síknégyszetes szerkezetben. A kísérletek igazolták az amidcsoportok réz(II)ion indukálta deprotonálódását és azok részvételét a koordinációban.

Különböző szérumalbumin modellekben a karboxilátcsoport távol- vagy jelenlétének hatásairól és szerepéről kívántak a kutatók információkhoz jutni akkor, amikor glicil-glicil-hisztamin réz(II)-, kobalt(II)- és nikkel(II)komplexeit vizsgálták és hasonlították össze más, C-terminális helyzetben O-donorcsoportot is tartalmazó rokon vegyületekkel³⁶. Réz(II) és nikkel(II) esetében semleges pH-tartományban MLH_2 összetételű, $\{\text{NH}_2, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{N}(3)_{\text{im}}\}$ koordinációs szférájú enyhén torzult síknégyszetes komplexek képződnek. A réz(II)komplex stabilitása valamelyest kisebb, mint a hasonló szerkezetű, ám C-terminális pozícióban a Gly-Gly-His-hez képest egy extra O-donorcsoportot tartalmazó ligandumok (pl. Gly-Gly-His) réz(II)komplexeinek stabilitása. Ez önmagában az O-donorcsoportok axiális koordinációját sugallná, ám több megfigyelés is cáfolja ezt. Egyrészt az összehasonlított ligandumok között a láncvégi karboxilt tartalmazó Gly-Gly-His stabilitása kisebb, mint a C-terminális amidcsoportot tartalmazó rokon

vegyületeké, viszont az nem valószínű, hogy a negatív töltésű karboxilátcsoport affinitása kisebb lenne a fémionhoz, mint az amidcsoportté. Másrészt az azonos összetételű, nikkel(II)komplexeire is ugyanilyen stabilitási sorrendet határoztak meg, holott a síknégyszetes nikkel(II)vegyületekben biztosan nincs szerepe axiális helyzetű csoportoknak. A stabilitási sorrend magyarázata minden valószínűség szerint abban keresendő, hogy a C-terminális csoportok (karboxilát vagy amid) megnövelik a szomszédos peptidnitrogén savasságát.

Részletes egyensúlyi vizsgálatokkal C-terminális pozíciójú hisztidin hatását tanulmányozták a réz(II)ion koordinálódására di-, tri-, tetra-, penta- és hexapeptidekben³⁷. Az oldallánci imidazol egyedi hatásának összehasonlíthatósága érdekében a többi aminosav glicin volt. Az eredmények az imidazolgyűrű jelentős szerepét és részvételét mutatták a réz(II)ion koordinációjában. Ugyanakkor ez a szerep egyre kisebb az oligopeptid lánc hosszának növekedésével. Mindez azt mutatja, hogy a koordináció az N-terminális lánc vég felől indul el, s az imidazol makrokelátot alkotva kapcsolódik a fémionhoz. Ennek a makrokelátnak csökken a stabilitása a lánc hosszal. Ennek következtében a penta- illetve hexapeptidben az amidcsoportok deprotonálódása révén az imidazolgyűrű teljesen kiszorul a koordinációs szférából (Gly₄His és Gly₅His). Meg kell ugyanakkor állapítani, hogy alacsonyabb pH-n az imidazolnitrogén koordinálódásával kialakuló makrokelát a magasabb pH értékek felé tolja el az amidcsoportok deprotonálódását, összevetve a hisztidint nem tartalmazó pentaglicinnel.

Gyurcsik Béla és munkatársai az N-terminális láncvégtől számított negyedik pozícióban hisztidint tartalmazó hexapeptid réz(II)komplexeit vizsgálták³⁸. A többi aminosav nem-koordinálódó oldalláncú volt, kivéve az N-terminális lizint. Emiatt ezen eredmények részben már átvezetnek a hisztidin mellett egyéb koordinálódó csoportot is tartalmazó peptidek témakörébe. A vizsgálatok azt mutatták, hogy savas pH-tartományban gyenge karboxilát koordináció mellett egy makrokelát alakul ki a lizin α -aminocsoportja, és a hisztidin imidazolnitrogénje részvételével. Semleges pH-ig a koordinálódó donorcsoportok száma folyamatosan nő a peptidnitrogének deprotonálódásával és koordinálódásával. pH 8 felett az imidazolnitrogén elhagyja a réz(II) koordinációs szféráját, ezzel szabályos, peptidszerű koordináció jön létre az N-terminális aminocsoport és három peptidnitrogén részvételével. Mindezt a ligandumfelesleg nem befolyásolja. Fémfelesleg jelenlétében azonban lehetőség van két fémion egyidejű koordinációjára. A két fémion pontos helyzete nem ismert, a mért ESR-spektrum azonban viszonylag szeparált réz(II)-centrumokra utal.

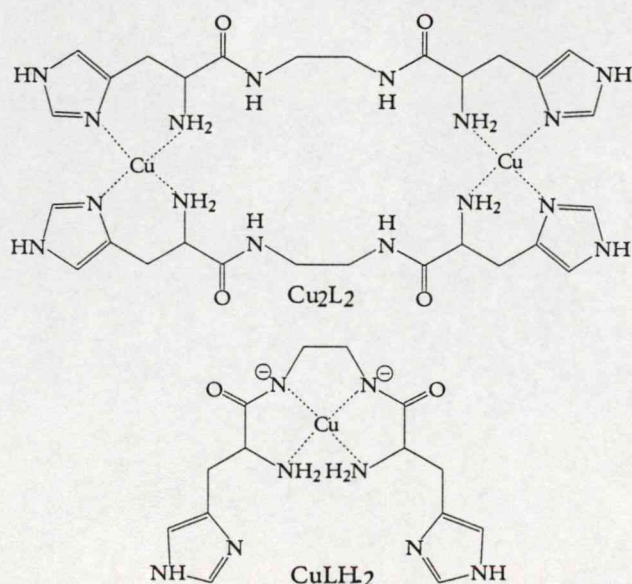
Amennyiben a hisztidin N-terminális helyzetű, a koordináció módja alapvetően megváltozik. A His-Gly-réz(II) rendszerben ekvimoláris körülmények között a glicin-glicin típusú koordinációs mód a kedvezményezett^{33,39}. Emellett az N-terminális hisztidin imidazolgyűrűje hídként kapcsol össze két MLH₁ összetételű egységet, így semleges pH-tartományban ez a dimer részecske uralkodó. Ligandumfelesleg alkalmazása visszaszorítja a peptid-deprotonálódást, és hisztamin típusú koordinációval biszkomplex képződik. Amennyiben a peptidlánc eggyel hosszabb (His-Gly-Gly), az előbbiekkal azonos folyamatok játszódnak le, kivéve a lúgos pH-tartományt, ahol a második amidcsoport deprotonálódásával triglicin típusú koordináció jön létre, s a dimer komplexek szétesnek⁴⁰.

Számos kutatócsoport vizsgált hisztidin mellett egyéb koordinálódó oldalláncú aminosavakat tartalmazó di- és oligopeptideket fehérjék fémkötőhelyeinek kismolekulájú modelljeiként. Cisztein tartalmú peptidek nagyon nehezen tanulmányozhatók a tiolcsoport

könnyű oxidálhatósága miatt. Így csak a nem redoxiérzékeny cink(II)ionnal állnak rendelkezésre adatok a His-Cys és Cys-His peptidek fémion-koordinációjára vonatkozóan⁴¹. Ezekből egyértelműen kitűnik, hogy semleges pH-n ZnL összetételű részecskék jelenléte meghatározó, melyekben a védett csoportoktól függően egy kistagszámú és egy ehhez csatolt makrokelát formájában kapcsolódnak a ligandumok a cink(II)ionhoz, a donorcsoportok tetraéderes elrendeződése mellett. Az amidnitrogén deprotonálódása cink(II)ion hatására nem történik meg. Metionin tartalmú peptidek réz(II)komplexeinek vizsgálatai arra mutattak rá, hogy az -S-Met csoport jelenléte a molekulában nem eredményez lényegi változást a glicin tartalmú dipeptidekhez képest³⁹. Aszparaginsav és glutaminsav jelenléte sem eredményez drasztikus változást, ugyanis az oldallánci karboxilát részvételével csak hat vagy nagyobb tagszámú kelátgyűrű kialakulására nyílik lehetőség. Természetesen az N-terminális aszparaginsav esetében ennek hatása számottevő az amidnitrogén deprotonálódásának pK-értékére⁴². Jelentős különbség akkor figyelhető meg, ha az N-terminális pozíciójú Asp vagy Glu β -aszpartát vagy γ -glutamát. Ekkor stabil aminosav típusú koordináció alakulhat ki az N-terminális végen, melyekhez a hisztidinnitrogén koordinációja is hozzájárul. Mindez az amidcsoport pK-ját szignifikánsan magasabb pH felé tolja, sőt a γ -Glu-His esetében nem is történik meg a csoport deprotonálódása⁴². C-terminális helyzetű tirozin oldallánc nem eredményez változást a His-Gly-nél leírtakhoz képest. Cink(II)ionokkal hisztidin típusú koordináció révén mono- és biszkomplexek képződnek, míg réz(II)ionok esetében a ligandumfeleslegének függvényében deprotonálódhat az amidnitrogén is⁴³.

Az eddig bemutatott irodalmi adatok rávilágítanak arra, hogy a kismolekulájú peptidek terminális donorcsoportjai és a peptidcsoportok fontos szerepet játszanak a réz(II)-, cink(II)- és egyéb fémionok koordinációjában, ugyanakkor oligopeptidekben és fehérjékben egy-két kivételtől eltekintve elhanyagolható a szerepük. A nem peptid alapú modellek első ránézésre gyakran nem sok hasonlóságot mutatnak peptidekkel, ám a megfelelő helyzetű funkciós csoportjaik révén nagyon jól modellezhetik proteinek oldallánci donorcsoportjainak szerepét. Emellett a funkciócsoportok közé amidkötés(ek)e)t építve a szerkezeti analógia még tökéletesebbé tehető.

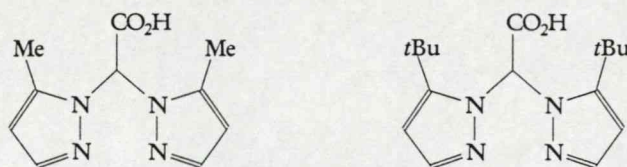
Gajda Tamás és munkatársai egy olyan ligandumot szintetizáltak, melynek két láncvégi hisztamin-amid egységét egy etilcsoport válsztja el egymástól (DHEN)⁴.



2. ábra: A DHEN-réz(II) rendszerben képződő komplexek szerkezete

A ligandum hisztamin jellegű részei rendkívül erős fémkötőhelyek, s így alapvetően befolyásolják az amidcsoportok fémion-koordinációban történő részvételét. A (pseudo)peptidekben az amidcsoportok deprotonálódása rendszerint fiziológias körülmények között játszódik le réz(II)-, nikkel(II)- és bizonyos esetekben cink(II)ionok hatására. Az említett ligandum hisztamin-jellegű részei azonban egy-egy fémiont kétmagvú szerkezetben (M_2L_2) olyan erősséggel kötnek (2. ábra), hogy az amidcsoportok deprotonálódása csak $pH \sim 10$ felett játszódik le réz(II)ionok esetében. (Cink(II)ionokkal hasonló pH -n ugyancsak felbomlik a kétmagvú egység, azonban ehhez a fémionok koordinációs szférájában elhelyezkedő vízmolekulák deprotonálódása vezet.)

Érdeklődésre tarthatnak számot olyan egymagvú cink(II)komplexek is, melyekben nitrogéntartalmú donortatomok mellett karboxilátcsoport koordinálódik a cink(II)ionhoz. Német kutatók olyan bispirazol származékokat állítottak elő, melyekben az aromás gyűrűket összekötő metilénhídhoz egy acetátcsoporthoz kapcsolódik (3. ábra)⁴⁴. Ezek kiváló szerkezeti modelljei egymagvú cinktartalmú enzimeknek (pl. termolizin, karboxipeptidáz A)²⁸, melyekben a fémionhoz két hisztidinimidazol, valamint egy glutamát karboxilátcsoportja kapcsolódik. A negyedik helyen egy vízmolekula helyezkedik el, melynek az enzimatis folyamatban van kitüntetett jelentősége. A modellvegyületek pirazolgyűrűi 3,5 helyzetben szubsztituáltak, s a szubsztituensek térgátoló hatása szabályozza, hogy mono- vagy biszkomplex képződik. A kutatók az enzimek aktív centrumának megfelelő szerkezetű monokomplex képződését tapasztalták, amennyiben a metilszubsztituenseket a jóval nagyobb térgátoló hatású *ter*-butil-csoportra cserélték.



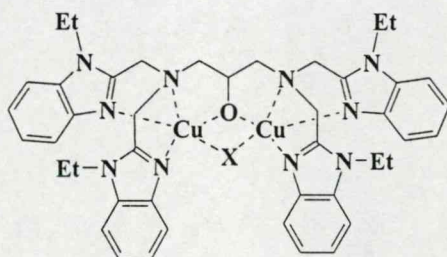
3. ábra: Bispirazol származékok szerkezete

Ebben a komplexben a cink(II) koordinációs szférája torzult tetraédes, a negyedik pozícióban vízmolekula koordinálódik a központi fémionhoz.

Metalloenzimek aktív centruma gyakorta tartalmaz két- vagy hárommagvú aktív centrumokat, melyekben a fémionok között valamilyen hídjellegű kapcsolat van. Ennek kialakításában szerepet játszhat (gyakran más funkciócsoportokkal együtt) a szubsztrát maga (pl. hemocianin réz(II)centrumai közötti dioxigén²⁴, egyes foszfatázok fémcentrumai közötti foszfáthíd²⁸ vagy a xilóz izomeráz Mn(II) centrumai közötti alkoholáthíd²⁸), vagy kialakíthatja valamilyen hídfunkciójú csoport, pl. imidazoláthíd (pl. szuperoxid-dizmutáz²⁶), ciszteináthíd (citokróm C oxidáz⁴⁵) vagy karboxiláthíd (pl. bíborsav foszfatáz, DNS-polimeráz 3'-5'-exonukleáz egysége, foszfolipáz C, protein foszfatáz)²⁸ illetve hidroxidion (pl. bíborsav foszfatáz, protein foszfatáz)²⁸.

Cink(II)- (vagy réz(II)-) tartalmú enzimek karboxiláthidas modelljeire nagyon kevés példa található az irodalomban, s ezekben az esetekben sem a modellligandum része a hídfunkciójú karboxilcsoport⁴⁶. A modellvizsgálatok inkább a fémcentrumok környezetének, geometriájának megfelelő utánzására törekednek, és a hídfunkciót rendszerint alkoholát^{10,11,46-48} vagy fenolátcsoport biztosítja^{13,48,49}. Ezekben a ligandumokban gyakorta egy alkoholos hidroxilcsoportot vagy fenolátcsoportot tartalmazó összekötő egység választja el egymástól a ligandum két-három nitrogéndonort tartalmazó részeit. Ezeken a helyeken egy-egy fémion

megkötődése lehetséges, melyek között hidkapcsolatot teremt az alkoholát- vagy fenolátcsoporthoz. Az ilyen modelleknél kulcsfontosságú, hogy a fémionok koordinációs szférája ne legyen teljesen telítettségű, mert ebben az esetben a kétmagvú komplex funkcionális modellként biztosan nem megfelelő, hiszen nincs lehetőség szubsztrát kötődésére a fémcentrumokhoz¹¹. A szubsztrát kötődését lehetővé tevő szabad pozíciók jelentősége egyértelműen látszik Krebs és munkatársainak a bíborsav foszfatáz illetve katekol oxidáz enzimek szerkezeti (és funkcionális) modelljeit bemutató összefoglalójából⁴⁸. Reed oxidált hemocianin modellje szeparált réz(II)centrumokat tartalmaz, melyek között egy 1,3-diamino-propán-2-ol egység alkoholátja teremt kapcsolatot (4. ábra)⁴⁷. Röntgenkristallográfiás mérések igazolják, hogy (legalábbis szilárd fázisban) a fémcentrumok távolsága ideális egy potenciális szubsztrát megkötődésére, amelyre bizonyíték az előállított acetáthidas komplex.



4. ábra: Alkoholáthidas kétmagvú réz(II)komplex szerkezete⁴⁷

2.1.2. Ón(IV)organikus kationok kölcsönhatása peptidekkel és peptidszámazékokkal

Az ónorganikus kationok peptidekkel és proteinekkel való kölcsönhatásának tanulmányozása kétféle szempontból is fontos. Az ónorganikus vegyületek ipari, mezőgazdasági és biológiai felhasználása az 1960–1985 közötti időszakban drámai módon megnövekedett (1985-ben 40000 t/év)⁵⁰. A főbb felhasználási területeik a következők: (1) polivinil-klorid polimerek hőstabilizátorai, (2) ipari és mezőgazdasági biocidok, (3) számos kémiai reakció ipari katalizátorai⁵¹. Bár az utóbbi időben felhasználásuk már csökken, az említett időszak az ónorganikus kemikáliák felhalmozódásához vezetett környezetünkben, különösen a természetes szárazföldi vizekben és tengervízben valamint a tengeri üledékben. Ráadásul ezen vegyületek erősen toxikusak, egyebek között régóta bizonyított neurotoxikusságuk, az immunrendszert és a májat károsító, szemet és bőrt irritáló hatásuk⁵¹. Ugyanakkor az ónorganikus vegyületek antitumor aktivitása is viszonylag régóta, körülbelül a 70-es évek közepe óta ismeretes. Az azóta eltelt időszakban megsokszorozódott a különböző ónorganikus komplexek potenciális rákellenes hatásaival foglalkozó közlemények száma, köztük számos összefoglaló rendszerezi az utóbbi 25 év eredményeit^{52–56}. A különböző sejtenyészetekkel szemben mutatott antitumor aktivitás mellett a vegyületek másik fontos jellemzője a toxikusság. Crowe munkája részletesen tárgyalja a toxikusság valamint az ón-szén kötések száma, illetve a szerves csoportok mérete, lánchossza közötti összefüggéseket⁵². A vizsgálatok zöme természetesen *in vitro* jellegű, azonban a sikeres kísérletek nyomán számos vegyület *in vivo* tesztek során is hatásosnak bizonyult. A vizsgálatok ellenére sincsenek pontos információink arról, hogy az ónorganikus vegyületek milyen módon fejtik ki rákellenes hatásukat. Nem tudjuk, hogy koordinálnak-e a DNS replikáció folyamatát vagy a fehérjék szintézisét szabályozó enzimekhez, esetleg magával a DNS-sel vagy RNS-sel történő kölcsönhatásuknak van szerepe az antitumor aktivitásban. Ez utóbbi elképzelés

alátámasztása vagy cáfolása okán számos dolgozat foglalkozik ónorganikus kationok és nukleotidok, nukleinsav fragmenták kölcsönhatásával⁵⁷⁻⁶¹, ugyanakkor éppen ennyire jelentős ezen vegyületek peptid- illetve fehérje-koordinációjának tanulmányozása.

Az organo-ón(IV) kationok potenciális peptid és fehérje kötődési helyei természetesen megegyeznek az előző fejezetben tárgyalt átmenetifémionok kapcsolódási helyeivel. A rövidebb peptidláncok esetén a terminális csoportokkal is számolni kell, ám a fehérjék esetén ezek jelentősége elmarad az oldallánci csoportok és a peptidcsoportok mellett. Míg azonban a réz(II)- és cink(II)ionok főként a nitrogéntartalmú donorcsoportokat favorizálják, addig az organo-ón(IV)kationok jobban kedvelik az oxigén- illetve kéndonorú csoportokat, ami a másik két fémiontól eltérő peptid-koordinációban jelentkezhet. A peptidekkel vagy fehérjékkel történő kölcsönhatás modellezése mindenképpen kismolekulájú peptidekkel vagy peptidszármazékokkal célszerű, minthogy a legkisebb építőkövek, az aminosavak nem megfelelő modellek az amidkötés hiánya miatt.

Nath és munkatársainak 2001. évi összefoglaló munkája jó áttekintést ad az ónorganikus vegyületek és peptidek (valamint aminosavak) kölcsönhatása terén eddig született eredményekről⁶². A dolgozat összeállítása is hűen tükrözi azt a hiányosságot, ami az ezen a területen elvégzett munkákban megmutatkozik. Nevezetesen, rendkívül kevés egyensúlyi vizsgálat történt az említett kölcsönhatások tanulmányozására, annak ellenére, hogy a leggyakrabban vizsgált rövid szénláncú diorgano-ón(IV) kationok (dimetil-ón(IV), dietil-ón(IV)) hidrolízise részletesen tanulmányozott, vizes oldataik hosszabb-rövidebb ideig a hidroxokomplexek aggregálódása nélkül eltarthatók, s ezen hidroxokomplexek egyensúlyi állandóit több kutatócsoport, köztük a szegedi is, meghatározta^{60,63-67}. Ugyanakkor részletes szilárd- és oldatszerkezeti (főként szerves oldószerekben) mérések történtek elsősorban dipeptidekkel (és aminosavakkal), viszont nagyon kevés eredmény született nagyobb peptidekre vagy peptidszármazékokra vonatkozóan. Számos szerkezetvizsgáló módszer alkalmazása lehetséges, így UV- (ligandum), IR- és Raman-spektroszkópia, ¹H-, ¹³C és ¹¹⁹Sn NMR-, ¹¹⁹Sn Mössbauer-spektroszkópia, röntgenkristallográfia és tömegspektrometria.

Palermói és dortmundi kutatók tanulmányozták a glicil-glicin és benzoil-glicil-glicin kölcsönhatását számos di- és triorgano-ón(IV) kationnal⁶⁸⁻⁷¹. A glicil-glicin – dimetil-, dibutil-, dioktil- és difenil-ón(IV) rendszerekben metanolos oldatokból előállított szilárd, 1:1 összetételű komplexek Mössbauer-spektroszkópiás vizsgálata a dipeptid három donorcsoportjának koordinálódását bizonyította a szilárd komplexekben^{68,69}. A parciális kvadrupólusfelhasadás-elmélet segítségével számított elméleti kvadrupólusfelhasadás értékek jó egyezést mutattak a mért értékekkel, s torzult trigonális bipiramis geometriára utaltak. Az alkil(fenil)csoportok minőségétől függetlenül a dipeptid két terminális csoportja axiális helyzetben koordinálódik a fémionokhoz, a két alkilcsoport, valamint a deprotonálódott amidnitrogén az ekvatoriális síkban helyezkedik el. Ezek az eredmények tehát azt mutatják, hogy a szilárd peptidkomplexekben lehetőség van az amidcsoport deprotonálódására és koordinálódására ón(IV)organikus kationokhoz. (Ugyanez nem történik meg az N-terminális nitrogénen védett dipeptideknél, melyekben csak a karboxilátcsoport koordinálódik a di- vagy trialkil-ón(IV)ionokhoz⁷¹. Előbbi esetében dimer, az utóbbinál pedig polimer szerkezet jön létre.)

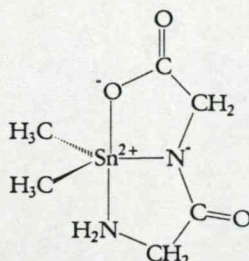
Ezen vizsgálatok folytatásaként az említett olasz és német kutatók dialkil-ón(IV)ionok glicil-glicin komplexének jelentős *in vivo* aktivitásának magyarázatához próbáltak közelebb jutni. A

szilárd komplexeket szerves és vizes valamint keverék oldószerekben oldották fel, és az oldatbeli szerkezetüket illetve annak változását tanulmányozták vezetőképességi mérésekkel, IR-, NMR- és Mössbauer-spektroszkópiával⁷⁰. A dimetil-ón(IV)kation Gly-Gly komplexével végzett méréseik alapján furcsa, s mind kutatócsoportunk korábbi, mind a doktori munkám eredményei alapján több ponton téves következtetésre jutottak. Állításaik szerint a fentebb leírt peptid típusú koordinációval kialakuló szilárd fázisbeli szerkezet szerves oldószerekben is megmarad, ugyanakkor vizes oldatokban annak folyamatos hidrolízise játszódik le. Ezen a ponton azonban a kutatók, eredményeik értelmezésekor, téves következtetésre jutottak. Véleményük szerint az említett hidrolízis során egy olyan átmeneti termék képződik, melyben csak a peptidnitrogén koordinálódik a fémionhoz. Mint azt majd eredményeink tárgyalásánál bemutatom, a szilárd komplex részleges disszociációja az alkalmazott koncentrációtól és pH-tól függően valóban lehetséges, ennek termékei azonban kizárólag a szabad dipeptid és a vízzel oldható $M(OH)_2$ hidroxokomplex. Ugyanakkor a peptidnitrogén vizes közegben kizárólag csatolt kelátgyűrűk révén, a terminális donorcsoportok "segítségével" koordinálódhat az ónorganikus kationhoz.

További dipeptidek szilárd komplexeit is előállította a palermói kutatócsoport, s tanulmányozta szerkezetüket szilárd fázisban, majd deuterált metanolban és D_2O -ban történő feloldásuk után⁷²⁻⁷⁴. A vizsgált dipeptidek egyebek mellett hisztidint, metionint, alanint, glicint, triptofánt és tirozint tartalmaztak, azaz számos különböző koordináló és nemkoordináló oldalláncú aminosavakból épültek fel. Ennek ellenére a szilárd komplexek szerkezete szinte semmilyen különbséget nem mutatott, mindegyikük a már fentebb leírt háromfajú peptid típusú koordináció révén kapcsolódik a vizsgált organo-ón(IV)kationokhoz. Azaz, a méréseik szerint sem a hisztidin imidazol oldallánca, sem a tirozin fenolos hidroxilcsoportja, sem a metionin tioétercsoportja nem képes megbontani és befolyásolni az említett szerkezetet. A trigonális bipiramisos geometriájú komplexek deuterált metanolban feloldva sem disszociálnak, D_2O -ban történő oldásuk során pedig a Gly-Gly kapcsán már említett téves következtetéseket vonták le a kutatók. A mérések és az eredmények tárgyalásának további komoly hiányossága az, hogy nem foglalkozik az oldallánci donorcsoportok protonáltsági állapotával, amelynek természetesen komoly hatásai lehetnek az oldatbeli szerkezetekre.

Dimetil-ón(IV)kation dipeptidekkel és peptidszármazékokkal történő kölcsönhatását vizes közegben elsőként Gajda Tamás és munkatársai tanulmányozták. A kísérletek oldategyensúlyi méréseken alapultak, azaz nem szilárd komplexek feloldása utáni szerkezeteket vizsgáltak, hanem éppen arra kívántak választ találni, hogy milyen kölcsönhatásokkal és komplexek képződésével kell számolni a kérdéses ligandumok és a dimetil-ón(IV)kationok között 2–11 közötti pH-tartományban⁶⁵. A csak nitrogéntartalmú donorokat tartalmazó ligandumok (hisztamin, glicil-hisztamin) esetében egyáltalán nem tapasztalták komplexek képződését, mely összhangban van azzal a gyakran hangoztatott megfigyeléssel, mely szerint az ónorganikus kationok nem preferálják az ilyen donorcsoportokat. Ennek ellentmondani látszik az a tény, hogy további két dipeptid, a glicil-glicin és a glicil-hisztidin esetében semleges pH-tartományban nagy stabilitású komplexek képződnek, s a dimetil-ón(IV)ion hidrolízistermékeinek képződése visszaszorul. A pH-metriás, valamint 1H - és ^{13}C NMR- és Mössbauer-spektroszkópiás vizsgálatok a fentebb tárgyalt szilárd komplexekre jellemző trigonális bipiramisos szerkezetű, lassú ligandumcseréjű komplexek jelenlétét mutatták, melyekben terminális karboxilát-, deprotonált amid- valamint terminális aminosocsoportok koordinálódnak a fémionhoz. Ezen vizsgálatok eredményei az első

példát jelentik arra vonatkozóan, hogy az ónorganikus kationok képesek vizes oldatokban is elősegíteni, meglehetősen alacsony pH-n, az amidnitrogén deprotonálódását, majd koordinálódását. Megjegyzendő, hogy a folyamatban minden valószínűség szerint a karboxilátcsoport játssza a horgony szerepét, s ennek elsődleges koordinálódása segíti elő a terminális aminocsoport és a peptidnitrogén kooperatív deprotonálódását és koordinálódását, ellentétben a palermói kutatók eredményeivel.



5. ábra: A dimetil-ón(IV)-Gly-Gly rendszerben vizes oldatban képződő MLH_1 komplex szerkezete

Az *N*-terminális aminocsoportján védett *N*-acetyl-triglicin és *N*-benzoyl-triglicin di- és triorgano-ón(IV)komplexeit is előállították szilárd fázisban, s meghatározták azok szerkezetét. A dipeptidekkel ellentétben csak a karboxilátcsoport révén koordinálnak a ligandumok a fémionokhoz, mely valószínűleg főként a hosszabb peptidláncnak és nem a védett aminocsoportnak köszönhető. Ugyanakkor nincs adat arra vonatkozóan, hogy szabad aminocsoport esetében milyen összetételű és szerkezetű komplexek képződnek⁷⁵.

Redukált glutation és mono-, di- valamint trimetil-ón(IV)ionok kölcsönhatásának vizsgálata sok korábbi eredménnyel összhangban bizonyította, hogy a tiolcsoport kiváló koordinatív sajátságokkal rendelkezik az ónorganikus kationokkal szemben⁷⁶. Vizes oldatokban végzett NMR- és Mössbauer-spektroszkópiás mérések a tiolcsoport koordinálódását valószínűsítik minden esetben, a peptidcsoport deprotonálódására azonban nem találtak bizonyítékot. Sajnálatos módon konkrét szerkezetet a koordinálódó donorcsoportokkal a kutatók nem adnak meg egyetlen esetben sem, mindössze a képződő komplexek geometriájára vonatkozó számolásokat végeznek NMR-spektroszkópiás adatok segítségével, az így meghatározott geometria minden esetben trigonális bipiramis.

Dimetil-ón(IV)-diklorid, dimetil-ón(IV)-glicil-glicin és dimetil-ón(IV)-ciszteinát modell-rendszerek kölcsönhatását tanulmányozták patkány-hemoglobinnal Barbieri és munkatársai⁷⁷. A szilárd komplexek oldatbeli szerkezeteit is meghatározták, bár azok egy része már korábbi munkákból is ismert. A semleges pH-n, vizes oldatban jelenlevő részecskék ciszteinnel való reakciója kicserélődési folyamatokhoz vezet, melynek révén trigonális bipiramis szerkezetű $Me_2Sn(OH)Cys$ és Me_2SnCys_2 összetételű komplexek képződnek. A Mössbauer eredményeik értelmezése szerint a második cisztein csak a tiolcsoportjával koordinálódik a fémionhoz. Hasonló megállapításra jutottak más kutatók is a dietil-ón(IV) – *L*-cisztein, *S*-metil-cisztein és *N*-acetyl-cisztein rendszerekben végzett oldategyensúlyi és Mössbauer-spektroszkópiás mérésekkel⁷⁸. (Az általuk leírt komplexekben (ML és ML_2H) azonban az első cisztein mindhárom donorcsoportjával koordinálódik a fémionhoz.) Az olasz kutatók feltételezése szerint a modellkomplexek hemoglobinnal való kölcsönhatásában a ciszteinek tiolcsoportjának van szerepe, emellett egy hisztidin imidazolgyűrűje is kapcsolódik a kationokhoz. A proteinhez kötött dimetil-ón(IV)ion geometriája így vagy tetraédres, vagy egy hidroxidionnal kiegészülve trigonális

bipiramisos. Hozzá kell tenni mindehhez azonban, hogy az eredmények kizárólag a preparált minták Mössbauer-spektroszkópiás mérésein illetve a parciális kvadrupólusfelhasadás-elmélet segítségével végrehajtott számolásokon alapulnak.

2.2. A foszfátészter-kötés hidrolízise

2.2.1. A foszfátészter-kötés hidrolízisének jelentősége az élő szervezetekben; foszfoészterázok csoportosítása és funkcióik

A foszfátészter-kötés jelentősége az élő szervezetekben közismert (ribonukleinsavak, ATP, foszogllicerát, glükóz-6-foszfát stb.). Ezeknek a kötéseknek a kiépítését az ún. kinázok végzik. Természetesen ugyanilyen fontossággal bír a foszfátészter-kötések hidrolízise is, amelyért az ún. foszfoészteráz enzimek felelősek. Csoportosításuk a szubsztrát specificitásuk alapján történhet. Eszerint megkülönböztetünk foszfomonoészterázokat (foszfatázok) és diészterázokat. Ez utóbbiak közül a legnagyobb jelentősége az ún. nukleázoknak van. A következő, pontokba szedett, rövid felsorolás az egyes csoportokba tartozó enzimek funkcióit foglalja össze részletes kifejtésük nélkül:

I. Monoészterázok

- energiaszállítás
- metabolikus folyamatok kontrollja (pl. glükolízis, neoglükogenezis, aminosavsintézis)
- a vércukorszint szabályozása
- sejtfolyamatok szabályozása (foszforilálás és defoszforilálás)
- sejtek közötti jelátadó mechanizmus

II. Diészterázok

- az RNS- és DNS-molekulák hidrolízise (lebontása) ill. a replikáció közben keletkező másolási szekvenciahibák javítása
- idegen DNS lebontása (a szervezetbe került vírusok elleni védekezés)
- az mRNS hidrolízise, miután az feladatát végrehajtotta.

III. Triészterázok

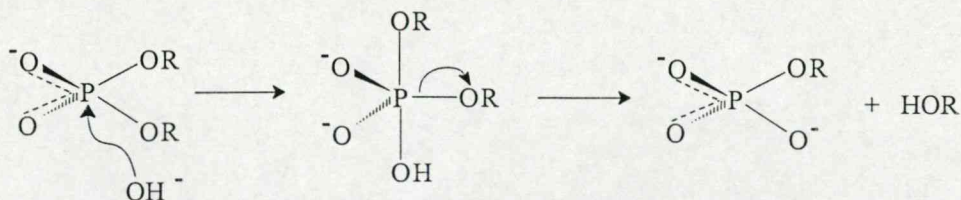
- néhány baktériumban acetilkolin-észteráz inhibitorok hidrolízisét katalizálják.

A foszfátriészter kötés hidrolízisének elsősorban vegyifegyverek, idegmérgek illetve mezőgazdasági peszticidek lebontása során van jelentősége.

2.2.2. A foszfátészter-kötés hidrolízisének mechanizmusa; néhány foszfoészteráz enzim működése

A foszfátészter-kötés hidrolízise az élő szervezetekben enzimatikusan katalizált folyamat. Katalízis nélkül a reakció rendkívül lassan menne végbe fiziológiás körülmények között, így pl. a DNS molekula becsült felezési ideje fiziológiás pH-n mintegy 200 millió év⁷⁹, aminek alapvető szerepe van a genetikai információ megőrzésében. A folyamat fémionok segítségével vagy a pH változtatásával meggyorsítható, de még így sok nagyságrenddel elmarad az élő szervezetekben lejátszódó DNS-hidrolízis sebességétől. A nukleinsavak kisebb egységeinek, nukleozid-foszfátoknak és dinukleotidoknak sav- és báziskatalizált hidrolitikus átalakulásait és azok mechanizmusát tárgyalják Lönnberg és Oivanen összefoglaló munkájukban⁸⁰. Az élő szervezetekben a foszfátészter-kötés enzimátikus hidrolízise S_N^2 mechanizmusú, csakúgy, mint az egyszerű báziskatalizált folyamat, így a hidrolízis főbb lépései általánosan bemutathatók (6. ábra).

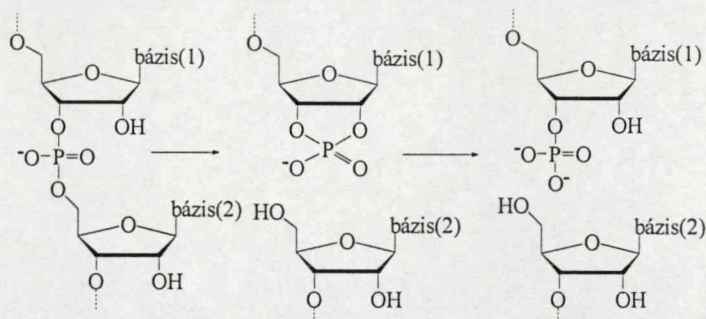
Természetesen, mint az majd az egyes példák kapcsán kiderül, ez az általános mechanizmus rendkívüli módon specializálódhat a tényleges folyamat során.



6. ábra: Foszfátészterek enzimatis, ill. hidroxidion katalizált hidrolízisének sémája

Az első lépés a bázis nukleofil támadása a parciálisan pozitív töltésű foszforatomon. Ennek révén egy trigonális bipiramis szerkezetű ún. foszforán intermedier jön létre, melynek stabilizálódása egy foszfor–oxigén kötés felhasadásával valósul meg, s a távozócsoport leszakadásával zárul a folyamat.

Már ezen a ponton megállapítható, hogy a folyamat sebességét egyebek mellett két tényező erőteljesen befolyásolhatja. Az egyik ilyen tényező a támadó bázis jellege. Így pl. az RNS- és DNS-molekulák hidrolízise alapvetően eltérő mechanizmus szerint játszódik le. Míg a DNS esetében a nukleofil támadást egy hidroxidion (semleges közegben vízmolekula) hajtja végre, addig az RNS-nél a 2'OH-csoport támadja a foszforatomot, és a lánchasadás egy ciklikus foszfátészter képződésén keresztül, átészteresítéssel játszódik le (7. ábra). Ennek megfelelően az RNS hidrolízise mintegy 6-8 nagyságrenddel gyorsabb, mint a DNS-é⁸¹.



7. ábra: RNS- vagy RNS-fragnens hidrolízisének mechanizmusa

A másik jelentős tényező a távozó csoport leszakadásának nehézsége, melyet alapvetően befolyásol a kérdéses csoport bázicitása. Ez szubsztrátonként rendkívül változó lehet, így pl. az ATP vagy a modellszubsztrátként használt aril-foszfátok jó távozó csoporttal rendelkeznek (ezek pK-ja 4-8 között van) míg a nukleotidok vagy nukleinsavak esetében a távozó csoportok alkoholátok, melyek pK-ja 13 fölötti érték, így ezek igen rossz távozó csoportnak nevezhetők.

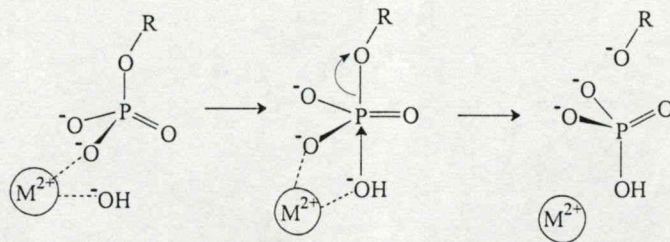
Az élő szervezetekben a fémionoknak a legtöbb esetben döntő szerepe van a foszfátészter-kötés hidrolízisében, de számos biológiai jelentős foszfáttranszfer reakcióban is.

A fémion-indukálta foszfátészter hidrolízis egyszerű mechanizmusát vázolja a következő ábra (8. ábra). A folyamatban a fémion(ok)nak az alábbi feladatai lehetnek:

- töltéskompenzáció és a P–O kötés további polarizációja fémion koordináció révén (Lewis-sav aktiválás),
- a nukleofil hidroxidion generálása,
- az átmeneti komplex stabilizálása a fémion koordinációja révén,
- a távozó R–O⁻ csoport stabilizálása koordináció révén (az ábrán nem szerepel).

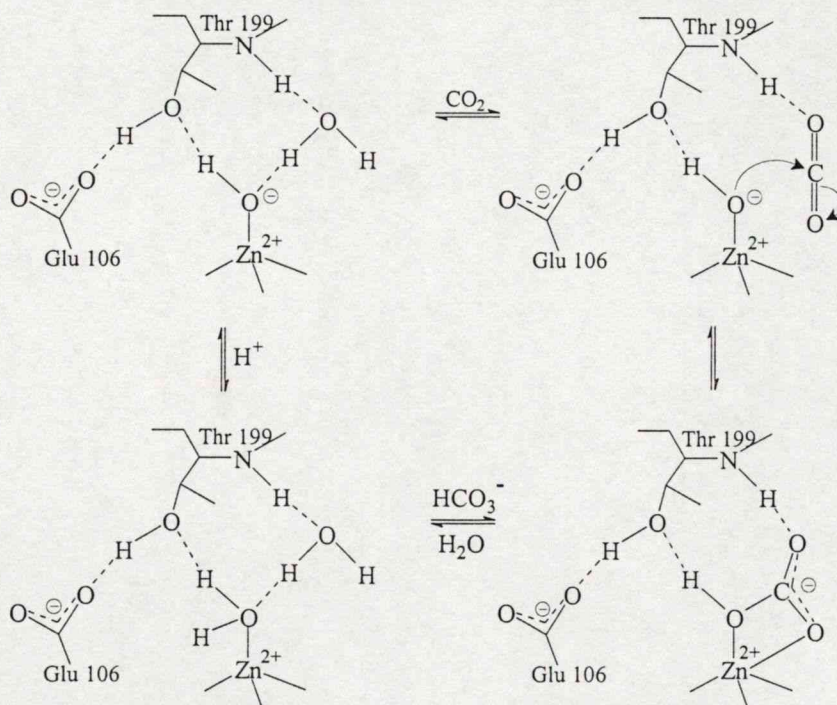


Az említett funkciók végrehajtására az egy fémiont tartalmazó centrumok mellett igen széles körben kétmagvú (vagy többmagvú) aktív centrumok szolgálnak, ahol a fémionok működése kooperatív. A fémionok lehetnek azonos (pl. foszfolipáz C)²⁸ vagy eltérő minőségűek (pl. bóborsav foszfatáz)²⁸.



8. ábra: Fémion-indukálta foszfátészter hidrolízis egyszerű sémája

Mára számos foszfoészteráz enzim szerkezete és működése elfogadható részletességgel ismert. Mindez a publikált kristályszerkezeteknek és a részletes oldatszerkezetre vonatkozó NMR-, ESR- illetve kinetikai vizsgálatoknak köszönhető. A tématerületen több kiváló összefoglaló jellegű munka is született^{28,82-84}. A következő néhány kiválasztott példa bemutatja, hogy a fentebb vázolt feladatok és funkciók hogyan érvényesülnek a gyakorlatban.

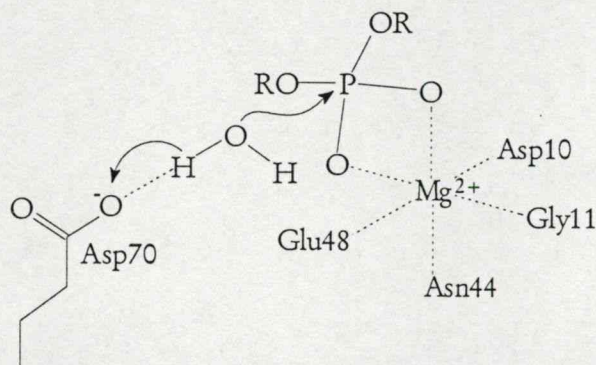


9. ábra: A széndioxid hidratációjának javasolt mechanizmusa a szénsav anhidrázban

Az első ilyen példa az egyik legismertebb hidrolitikus enzim az egymagvú, cink(II)tartalmú aktív centrummal rendelkező szénsav anhidráz. Ez ugyan nem foszfátészter-kötés hidrolízisét katalizálja, viszont a mechanizmus általánosítható, így a szénsav anhidráz példáján keresztül bemutatathatók a hidrolitikus folyamatok lépései (9. ábra). Mint arról korábban már volt szó, a tetraédes koordinációs szférájú központi ionhoz három hisztidin imidazol koordinálódik, míg a negyedik pozícióban egy hidrogénhidas szerkezetben rögzített vízmolekula található⁸⁵. Ennek deprotonálódása révén képződő hidroxidion hajt végre nukleofil támadást a parciálisan pozitív

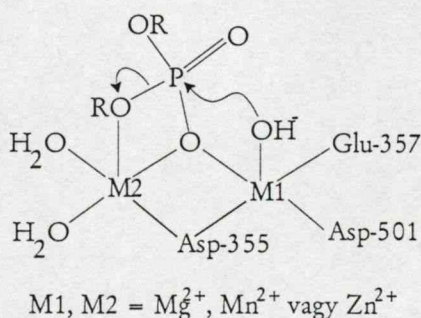
töltésű szénatomon. Az így kialakuló hidrogénkarbonátion kétfogú kapcsolatot létesít a fémionnal, emellett a fehérje egyéb pontjaihoz hidrogénhidak rögzítik. A hidrogén-karbonát leszakadása egy vízmolekula beépülése révén történik meg, amellyel a ciklus ismételtén játszódhat.

Az *E. coli* endoribonukleáz H RNS/DNS duplexek RNS-láncának hidrolitikus hasítását végzi. A folyamatnak fontos szerepe van a DNS replikációjában. Az enzim aktív centrumában egyetlen $Mg(II)$ ion található (10. ábra), melyhez egy-egy aszpartát- és glutamát-karboxilát valamint egy-egy glicin és aszparaginsav amidoxigénje koordinálódik⁸⁴. A fémion valószínűleg a szubsztrát elektrosztatikus aktiválásában vesz részt, a foszfát két oxigénjével is kapcsolódik a magnézium(II) ionhoz. Az aktív centrumhoz közeli Asp70 karboxilátcsoportja egy vízmolekula deprotonálása révén a hidroxidiont generálja, mely utána a nukleofil támadást végrehajtja^{84,86}.



10. ábra: Az *E. coli* ribonukleáz H működésének sematikus mechanizmusa

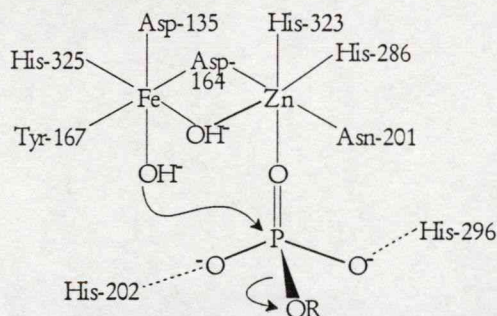
A DNS polimeráz I enzimek a DNS-lánc szintézisét és hidrolízisét egyaránt képesek elvégezni, ami által lehetségessé válik a DNS replikációja során keletkező bázishibák kijavítása. Az enzim egyik alegysége, az ún. Klenow-fragmens, mind polimeráz, mind 3'-5'-exonukleáz aktivitással rendelkezik. Enzimkinetikai és kristályszerkezeti vizsgálatok alapján feltételezhető^{87,88}, hogy a kettős funkcióért két, egymástól körülbelül 30 Å távolságra levő aktív centrum felelős.



11. ábra: Az *E. coli* DNS polimeráz I 3'-5'-exonukleáz alegységének javasolt működési mechanizmusa

Az exonukleáz aktivitást biztosító centrum két fémiont tartalmaz ($Mg(II)$ vagy $Zn(II)$ esetleg $Mn(II)$) egymástól 3,9 Å távolságra (11. ábra), melyeket a foszfátészter szubsztrát egyik, μ -1,1-hidas módon kötődő oxigénje valamint az Asp355 karboxiláthídja kapcsolja össze. A szubsztrát hídjellegű kötődése a korábbi példáknál erősebb, ún. kettős Lewis-sav aktiválást tesz lehetővé. Az ábrából is kitűnik, hogy az egyik fémcentrum kötődése jóval erősebb a fehérjéhez, míg a másik csak a szubsztrát jelenlétében kapcsolódik. Az M1 által generált hidroxidion hajtja végre a

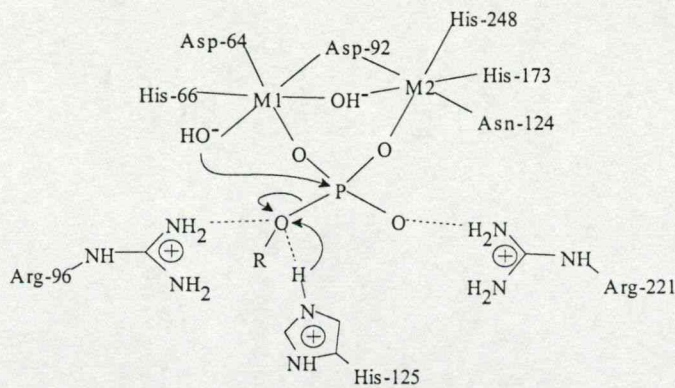
nukleofil támadást, M2 pedig a Lewis-sav aktiváláson kívül a cukorfoszfát-váz megfelelő 3'-észteres oxigénjéhez kötődve a távozó csoport stabilizálásában vesz részt. A bíborsav foszfatáz olyan enzimek összefoglaló neve, melyek foszfátészterek hidrolízisét katalizálják savas körülmények mellett (az optimum rendszerint pH 4,9–6,0 tartományban van), működésüket tartarationok jelenléte gátolja, aktív centrumuk pedig vagy egy-egy vas(III)- és vas(II)iont, vagy utóbbi helyett valamilyen más kétértékű fémiont tartalmaz. Inaktív oxidált formájukban jellegzetes bíborvörös színűek ($\lambda_{\max} \sim 550$ nm), míg aktív redukált formájukban színük rózsaszín ($\lambda_{\max} \sim 510$ nm)⁸². Monofoszfatáz funkciójuk mellett bizonyos megfigyelések (pl. a vas transzportjának segítése a transferrinhez) arra engednek következtetni, hogy szerepük lehet a vasanyagcserében. Előfordulnak baktériumokban, növényekben illetve állatokban egyaránt, fő funkciójuk aril-foszfátok, foszforsavanhidridek illetve foszfoproteinek foszforilált szerincsoportjainak hidrolízise. A spanyolbabból elkülönített enzim szerkezetét 1995-ben Krebs és kutatócsoportja közölte⁸⁹ (12. ábra). Az enzim aktív centrumában vas(III)- és cink(II)ionok találhatók egymástól 3,3 Å távolságra. A két fémiont egy aszpartát-karboxilát- és egy hidroxidhíd köti össze. A javasolt mechanizmus szerint⁹⁰ egy, a vas(III)hoz koordinált vízmolekula deprotonálódása révén képződő hidroxidion felelős a nukleofil támadásért (ez magyarázza a savas pH-optimumot), míg a cink(II) a szubsztrát megkötését és aktiválását végzi. A mechanizmusban szerepet játszik még két, az aktív centrumhoz közeli hisztidin is az átmeneti komplex stabilizálásában, ill. a távozó csoport ($R-O^-$) protonálásában.



12. ábra: A spanyolbabból izolált bíborsav foszfatáz működési mechanizmusa

Proteinek foszforilálását és defoszforilálását kináz illetve foszfatáz enzimek végzik reverzibilis módon⁹¹. A Ser-, Thr- vagy Tyr-foszfát kötéseket hidrolizáló enzimek kulcsfontosságúak a sejten belüli jelátadás szempontjából⁸². Ezek az ún. protein foszfatázok egymáshoz, sőt a bíborsav foszfatázokhoz is meglehetősen hasonlóak mind aminosavsorrendjüket, mind az aktív centrum szerkezetét illetően.

A nyúlizomból elkülönített protein foszfatáz I. szerkezetét⁹² mutatja be a 13. ábra. Az aktív centrum két fémionja minden valószínűség szerint mangán(II), távolságuk 3,3 Å. A köztük levő kapcsolatot a bíborsav foszfatázhoz hasonlóan egy aszpartáthíd és egy hidroxidion biztosítja. Ellentétben az előbbi példával, a foszfát-monoészter szubsztrát 1,3-hidas formában mindkét fémionhoz kapcsolódik, ami kettős Lewis-sav aktiválást eredményez. Az M1 fémionhoz kapcsolódó hidroxidion szerepel nukleofil reaktánsként, míg az észter aktiválásában valamint a foszforán intermedier stabilizálásában a két fémion mellett fontos szerep jut a két közeli arginin guanídium csoportjainak is. A távozó csoport protonálásában, s ezzel a folyamat elősegítésében egy, a centrumhoz közeli hisztidin vesz részt.



13. ábra: A nyílizomból elkülönített protein foszfatáz I szerkezete és működése

2.2.3. Foszfoészterázok (szerkezeti) és funkcionális átmenetifém-komplex modelljei

Az előző fejezetben bemutatott aktív centrumok működésének modellezése igen nagy kihívás a témával foglalkozó kutatók számára, hiszen a természet hidrolitikus enzimeitől rendkívüli mértékben képes gyorsítani általában a foszfatészterek, s ezen belül az RNS- és DNS-molekulák hidrolízisét. Az ún. mesterséges nukleázok ezen makromolekulák hidrolízisét hivatottak elősegíteni, így a velük szembeni elvárások igen nagyok. Ahhoz, hogy a natív enzimek hatékonyságát legalábbis megközelítsék, 10^{10} – 10^{12} -szeres gyorsítást kell kifejteniük⁹¹. Valószínűleg ennek is köszönhető, hogy a mesterséges nukleázok kifejlesztése "gyerekcipőben jár". Ugyanakkor felhasználásuk a közeli jövőben számos területen ígéretesnek látszik. Egyik ilyen felhasználási területük lehet a génspecifikus kemoterápia, mely minden olyan betegség esetében alkalmazható lehet, mely a szervezetre veszélyes fehérjék képződésével jár (vírusos, bakteriális és különböző típusú rákos megbetegedések)⁹¹. A módszer alapja a megfelelő mRNS lebontása, mely az említett fehérjék transzlációját megakadályozza. Egy másik lehetséges felhasználásuk a DNS-molekulák hasítását végző ún. restrikciós enzimek kiváltása. Egy 15 tagú, tetszőleges szekvenciájú oligonukleotid-lánc megfelelő hidrolitikus egységhez kapcsolva teljes specifikitást képes biztosítani a mesterséges nukleázok számára⁹³. A mai technológiával egy ilyen hosszúságú oligonukleotid előállítása semmiféle problémát nem jelent, így a kívánt nukleinsav szakasz felismerése illetve az ahhoz való kapcsolódás az oligonukleotid lánc révén könnyen megoldható, ugyanakkor a megfelelő hidrolitikus egység kifejlesztése valamint annak kapcsolása az oligomer hordozóhoz okozza a nehezebb feladatot a kutatóknak. Ennek ellenére számos ilyen mesterséges nukleáz fejlesztettek ki⁸⁰. Feltétlenül említést érdemel a kémiai nukleázok azon csoportja is, melyek esetében a hasítás nem hidrolitikus, hanem oxidatív mechanizmus révén megy végbe⁹⁴. Ezen a területen hatásosabb nukleázok kifejlesztése valósult meg, ugyanakkor sokoldalúbb felhasználási lehetőségük miatt a hidrolitikus mechanizmussal működő nukleázok ígéretesebbek.

A foszfoészteráz enzimek legegyszerűbb modelljei a szabad fémionok, melyek az előző fejezetben vázolt feladatokat, így a szubsztrát megkötését és aktiválását, a távozó csoport vagy a foszforán intermedier esetleges stabilizálását, valamint hidrolízisük révén a nukleofil hidroxidion generálását is képesek elvégezni. Ezen szempontok alapján az erősebb Lewis-sav fémionok tűnnek kedvezőnek, s ennek megfelelően a három-négy vegyértékű fémionok fiziológias körülmények között is a hidrolízis nagymértékű gyorsítására képesek. Így pl. számos lantanoidaion (Tm^{3+} , Yb^{3+} , Lu^{3+}) néhány perc alatt képes a gyakori RNS-modell dinukleotid ApA

100 %-os hasítását előidézni⁹⁵. Mindazonáltal ezek a fémionok több szempontból sem tekinthetők megfelelő modellnek. Az általuk elősegített folyamatban rendszerint rosszul definiált hidroxoklaszterek, illetve néhány esetben hidroxogélek felelősek a hidrolízisért, így az aktív komplex szerkezete egyáltalán nem határozható meg. Emellett természetesen nem várható semmiféle helyspecifitás az akvoionoktól. A nagy hidrolitikus aktivitású fémionok nem képesek a foszfomono- és diészterek megkülönböztetésére, sőt legtöbbször előbbieket nagyobb hatékonysággal hasítják, ami nem túl szerencsés tulajdonság potenciális mesterséges nukleázok esetén. A gyengébb Lewis-sav karakterű fémionoknál, bár az említett hidroxoklaszterek általában nem képződnek, aktivitásuk messze elmarad az említett ionokétól. Természetesen a specifikusság ezen fémionoknál sem biztosítható. Lönnberg és munkatársai számos közleményben és összefoglaló jellegű munkákban^{96,97} foglalkoznak a fémionok (elsősorban átmenetifémionok, néhány alkáliföldfém- és lantanoidaion) ciklikus nukleotidok⁹⁸ és dinukleotidok⁹⁹, valamint oligonukleotidok¹⁰⁰ hidrolízisére gyakorolt hatásával. Tapasztalataik arra utalnak, hogy a hidrolízis sebessége, még a háromvegyértékű fémionoknál is, közvetlen összefüggésben van a fémionok Lewis-savasságával. Ugyanakkor a kétértékű fémionok nem katalizálják a foszfátcsoport migrációját, mely a foszfodiészterek domináns átalakulási iránya semleges pH-n⁹⁶. Ennek több oka is lehet. A fémion jelenlétében végbemenő folyamat más mechanizmust követ, mint annak távollétében, nevezetesen a már említett dianionos foszforán intermedieren keresztül játszódik le a reakció. Az egyik lehetőség szerint vagy a foszforán intermedier stabilitása túl kicsi a migráció lejátszódásához, vagy annak pszeudorotációja gátolt, ami elengedhetetlen a migrációhoz. A másik lehetőség szerint a fémion annyira gyorsítja az intermedier hidrolitikus bomlását, hogy a migráció számottevő mértékben nem játszódik le.

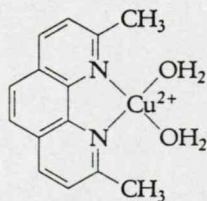
A szabad fémionokhoz képest ugrásszerű gyorsulás érhető el a modellszubsztrátok hidrolízise terén fémkomplexek alkalmazásával (kivéve a lantanoidaionokat). Több összefoglaló jellegű munka különböző szempontok szerint csoportosítja és részletesen tárgyalja ezeket a hatékony funkcionális foszfoészteráz-modellkomplexeit^{96,101-105}. Ezen funkcionális modelleket legcélszerűbb egymagvú illetve két- vagy többmagvú komplexekre bontva tárgyalni, hiszen – mint az a fentebbi aktív centrumok működési mechanizmusából is látható – a fémionok kooperációja alapvető előnyökkel járhat. A természet előszeretettel alkalmazza hidrolitikus enzimek aktív centrumában a magnézium(II)- és cink(II)ionokat, ami természetesen nem jelenti azt, hogy csak ezen fémionok modellkomplexeit érdemes tanulmányozni. Mint korábban már volt róla szó, a fémionok Lewis-sav karakterének erőssége összefüggésben van a hidrolitikus aktivitással, ami érvényes komplexeikre is. Ennek megfelelően pl. réz(II)-, vas(III)- illetve lantanoidakomplexek hatékony modellek lehetnek.

A megfelelő hidrolitikus aktivitás kifejtéséhez a fémkomplexeknek számos követelménynek kell megfelelniük^{91,104}. A fémionok koordinációs szférájában legalább két *cis* helyzetű szabad helynek kell rendelkezésre állnia a szubsztrát és a nukleofil hidroxidion megkötéséhez. Ugyanilyen fontos az imént tárgyalt erős Lewis-savasság, melynek következtében a fémion környezetében elhelyezkedő vízmolekula(k) kellően alacsony pH-n képes(ek) deprotonálódni, emellett a negatív töltésű foszfátészter koordinálódása révén a P–O kötés is aktiválódik (Lewis-sav aktiválás). Utóbbi szempontból előnyös és szükséges, hogy a fémkomplex pozitív töltésű, de legalábbis semleges legyen. Ez főként a nitrogéndonor ligandumok komplexeinél valósulhat meg. A felsorolt követelmények teljesülése esetén is számolni kell a fémionok oldatbeli speciációja okozta

hátrányokkal. Ugyanis a labilis fémionok esetében gyakorta számos komplex egyidejű jelenlétével kell számolni az oldatokban, mely egyrészt csökkentheti az aktív részecske koncentrációját, másrészt annak azonosítását is megnehezítheti.

Az egymagvú fémkomplexek esetében fenti követelmények legkönnyebben két- illetve háromfogú ligandumokkal teljesíthetők. Az egyik legegyszerűbb ilyen potenciális ligandum a hisztamin, melynek cink(II)komplexeinek cUMP-re gyakorolt hidrolitikus hatását Tanszékünk egyik kutatócsoportja tanulmányozta⁴. A rendszerben elvégzett pH-metriás vizsgálatok öt különböző részecske, jelentősebb mennyiségben az ML, ML₂ és ML(OH) jelenlétét mutatták az oldatban. A szubsztrát hidrolízisének pH-függése szigmoidális jellegű, s a görbe párhuzamosan fut az ML(OH) komplex képződésével. Ennek alapján a tapasztalt aktivitás ehhez a részecskéhez rendelhető. A biszkomplex nem bizonyult aktívnak, minden valószínűség szerint annak tetraédres geometriája¹⁰⁶, s így a szabad koordinációs hely hiánya miatt. Az említett hidroxokomplex mintegy három nagyságrendnyi gyorsulást eredményez a ciklikus nukleotid autohidrolíziséhez képest, mely vetekszik az egyik leggyakrabban használt cink(II)tartalmú részecske, az 1,5,9-triaza-ciklododekán cink(II)komplexének aktivitásával.

Ugyancsak az ML(OH) összetételű komplexet találták aktívnak egyszerű két- és háromfogú piridintartalmú ligandumok réz(II)komplexeinek vizsgálata során. A 2,2'-bipiridil CuL(OH) komplexe katalitikusan gyorsította több aktivált észter hidrolízisét¹⁰⁵, míg a terpiridin megfelelő komplexe hatékonyan bizonyult cAMP hasítása során¹⁰⁷. A kutatók mindkét esetben a réz(II)ionhoz kapcsolódó hidroxidion direkt nukleofil támadását valószínűsítik a foszforatomon, melynek révén kialakulhat a pentakovalens foszforán intermedier. Ugyanakkor az utóbbi komplex esetében a mechanizmusban jelentős szerepet tulajdonítanak a fémionhoz koordinált vízmolekulának is, amely a Brönsted-savként a távozó csoport protonálását végzi, s ezzel egyúttal regenerálódik a nukleofil reaktáns is. Meg kell jegyezni azonban, hogy az ilyen típusú rendszerekben lehetőség van dihidroxohidas dimer komplexek képződésére (melyek nagy valószínűséggel hidrolitikusan inaktívak), amit a mérések során alkalmazott meglehetősen kicsi fémionkoncentráció is sugall. A dimerizáció kiküszöbölésére Chin és munkatársa a jelentősebb térigényű metilszubsztituenseket tartalmazó fenantrolinszármazék, az ún. neokuproin réz(II)komplexét alkalmazta (14. ábra)¹⁰⁸.

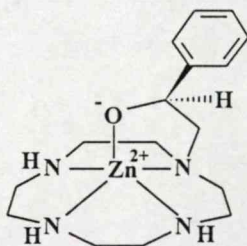


14. ábra: A $[Cu(neokuproin)(H_2O)_2]^+$ komplex sematikus szerkezete

Méréseik szerint az ábrán látható komplex a pH-optimumnál csaknem 20000-szer hatékonyabb az ApA dinukleotid hidrolízisére, mint a 2,2'-bipiridil megfelelő CuL(OH) komplexe a megfelelő pH-n. Ennek oka csak részben rejlik a fémionhoz kapcsolódó vízmolekulák pK-értékeinek különbségében (2,2'-bipiridil esetében: 7,8, neokuproin: 7,0). A döntő tényező a dimerizáció, melynek eredményeként a bipiridil-réz(II) rendszerben a fémionra nézve 0,01 mólos oldatban csak néhány százalék monomer komplex van jelen, ugyanakkor a neokuproin esetében 100 százalék a monomer forma aránya. Utóbbi komplex az ApA dinukleotid félélettartamát fiziológias

körülmények között ($\text{pH}=7$, $t=37\text{ }^{\circ}\text{C}$) ~ 12 évről 3 percre csökkentette, ami drámai, $2 \cdot 10^7$ -szeres gyorsulást jelent. Különböző, három illetve négy nitrogént tartalmazó ciklikus^{98,99,109-111} (és nyíltláncú)¹¹¹ aminok egymagvú fémkomplexeinek hidrolitikus hatásával számos közlemény foglalkozik. Ezek a ligandumok képesek lúgos körülmények között is oldatban tartani a fémionokat, emellett ezekben a komplexekben a fémionhoz koordinált vízmolekula pK -ja meglehetősen alacsony lehet ($\text{pK} \sim 7-8$), így biztosított az erős nukleofil reaktáns a hasításhoz. A dolgozatok részletesen taglalják az ML összetételű komplexek stabilitása és a koordinálódott vízmolekula savassága, s ennek függvényében különböző aktivált észterek hidrolízisére gyakorolt hatásuk közötti összefüggéseket. Kilenc, tíz valamint tizenegy gyűrűtagszámú triazaszármazékok réz(II)komplexeit hasonlították össze Burstyn és munkatársai¹¹⁰. Tapasztalataik alapján a gyűrűméret növekedése a réz(II)ion koordinációs geometriájának megváltozásával jár a $\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})_2^{2+}$ komplexekben, a négyzetes piramisos szerkezet torzult trigonális bipiramissá alakul a legnagyobb gyűrűtagszámú ligandum esetében. Ezzel párhuzamosan szterikus okok miatt a monomer komplexek dimerizálódása egyre kevésbé kedvezményezett, azaz a kinetikailag aktív részecske koncentrációja s így a mért hidrolitikus aktivitás is a tizenegy gyűrűtagszámú ligandumnál a legjelentősebb.

Kimura és kutatócsoportja olyan módosított ciklikus tetraaszármazék cink(II)komplexét tanulmányozta, melyben a gyűrű egyik nitrogénjéhez kapcsolódó oldallánc alkoholos hidroxilcsoportja az alkalikus foszfátáz enzim Ser-102 hidroxilcsoportjának funkcióját modellezi¹¹² (15. ábra).



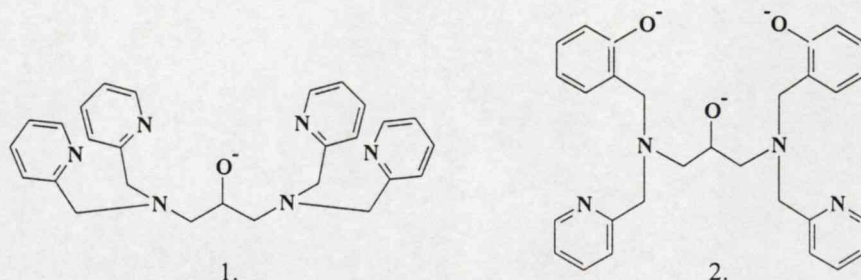
15. ábra: Alkoholtól oldalláncot tartalmazó tetraaza-ciklododekán származék cink(II)komplexe

A bisz(4-nitrofenil)-foszfát (BNPP) hidrolízisére $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on meghatározott másodrendű sebességi együttható értéke $6,5 \cdot 10^{-4}\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, amely mintegy 27-szer nagyobb, mint az autohidrolízisre (a hidroxidion katalizált folyamatra) vonatkozó másodrendű együttható. Ez, az egymagvú cink(II)komplexek esetében igen jelentős érték, mintegy 125-szöröse az analóg metil-oldalláncot tartalmazó ligandum cink(II)komplexére meghatározott együtthatónak. Ez azt sugallja, hogy a cink(II)-koordinált deprotonált alkoholos hidroxilcsoport erősebben nukleofil, mint a cink(II)-koordinált hidroxidion. Meg kell azonban jegyezni, hogy míg az alkoholátcsoporthoz támadásával induló folyamat egy foszforiltranszfer átészterezési reakció, mely egy foszforil átmeneti terméket eredményez, addig a metiloldalláncot tartalmazó ligandum esetében a cink(II)- OH^- támadása révén hidrolízissel 4-nitrofenil-foszfát képződik, s visszaalakul az eredeti komplex. Az említett foszfát-diészter átmeneti termék további hidrolízise, immár intramolekuláris OH^- támadást követően, a második nitrofenolátcsoporthoz támadásával jár, melynek révén kialakul a ligandum hidroxilcsoportján foszforilált végtermék.

Nagyobb töltésű, erősebb Lewis-sav karakterű lantanoidaionok tetraaza-ciklododekán származékokkal képzett komplexei a korábbiaknál is jóval jelentősebb sebességnövekedést

eredményeztek mind aktivált¹¹³, mind nemaktivált foszfátaszterek hasítása során¹¹⁴. Az 1,4,7,10-tetraaza-ciklododekán nitrogénjein hidroxietilcsoporttal szubsztituált származékának eurórium(III)komplexét vizsgálták a BNPP hidrolízisére vonatkozóan. A mért másodrendű sebességi együttható több, mint 8000-szerese az autokatalitikus értéknek. Mindez azt jelenti, hogy a komplex 1 millimólos koncentrációban fiziológias körülmények között közel hét nagyságrenddel gyorsítja az említett szubsztrát hidrolízisét¹¹³. Fentebbi alapvegyület tetraacetamido származékának lantan(III)vegyülete mindössze 0,2 millimólos koncentrációban, ugyancsak fiziológias körülmények mellett, az RNS-oligomer poliadenozin hasítását gyorsítja mintegy öt nagyságrenddel az autohidrolízishez képest. Az ilyen lantanoidakomplexek előnyös sajátása az is, hogy míg a szubsztrát és a termék labilisan kötődik hozzájuk, addig maguk a fémkomplexek inertek, amely *in vivo* alkalmazásokban különösen előnyös lehet⁹¹. A kétmagvú (esetleg hárommagvú) komplexek alkalmazásának lehetséges előnyeiről már esett szó. A fémionok együttműködése szempontjából alapvető fontosságú a fémionok viszonylagos közelsége, valamint a távolságuk és pozíciójuk megfelelő rögzítettsége⁹¹. A fémionok távolsága natív enzimekben 3,2–4,0 Å között mozog. Ilyen jellegű modellkomplexek kialakítására két lehetőség kínálkozik: (1) a ligandum valamilyen funkciós csoportja kapcsolja össze a fémionokat, (2) a fémionok nincsenek közvetlen kapcsolatban egymással, hanem a kötődési helyeket valamilyen merev összekötő egység kapcsolja össze.

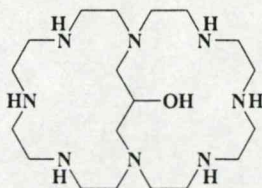
Az első csoportba tartozó ligandumoknál a hídjellegű kapcsolatot az esetek túlnyomó többségében alkoholát-^{115–117} esetleg fenolátcsoport¹¹⁸ biztosítja. (Ilyen ligandumokról még több alkalommal lesz szó a dolgozat további fejezeteiben.) Komiyama és munkatársai két 1,3-diamino-2-propanol alapú, az aminocsoportokhoz kapcsoltan piridingyűrűket tartalmazó ligandumot szintetizáltak, s ezek kétmagvú cink(II)komplexeit¹¹⁵ valamint cink(II)-vas(III) vegyesmagvú komplexeit¹¹⁶ tanulmányozták.



16. ábra: Kétmagvú, alkoholát-hidas komplexek kialakítására képes ligandumok^{115,116}

Az 16. ábrán látható 1. ligandum kétmagvú cink(II)komplexe az RNS dinukleotid ApA félélettartamát kb. 10 órára csökkenti 50 °C-on, 2,5 millimólos komplexkoncentráció mellett. A feltételezett mechanizmus során a fémionoknak a 2'OH-csoport deprotonálódásának elősegítésében, koordinációjuk révén a foszforán intermedier stabilizálásában, valamint ugyancsak koordináció révén az 5'-O⁻-nukleotid távozó csoport leszakításában van szerepük¹¹⁵. A 2. ligandum alkoholáthidas cink(II)-vas(III)komplexe az előbbi példával összevetve ugyan jóval kisebb aktivitású, ám a megfelelő cink(II)-cink(II) illetve vas(III)-vas(III)komplexeknél 20-szor hatékonyabban hasítja az ApA dinukleotidot. Ennek oka a feltételezett mechanizmusban rejlik, miszerint a két fémion eltérő funkciót tölt be a folyamatban: a cink(II)-hez koordinálódott hidroxidion általános bázisként elősegíti a 2'OH-csoport deprotonálódását, így annak támadását a

foszforatomon, ugyanakkor a vas(III)ion a szubsztrát megkötésében, illetve a távozó csoport protonálásában játszik szerepet¹¹⁶.

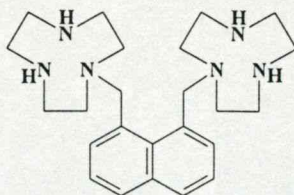


17. ábra: Propanol-hidas oktaaza-kriptand¹¹⁷

A Kimura és munkatársai által szintetizált propanolhidas oktaaza-kriptand ligandum (17. ábra) kétmagvú cink(II)komplexe érdekes szubsztrátszelektivitással rendelkezik. A fémionok telített trigonális bipiramisos koordinációs geometriája alapján jelentősen csökkent hidrolitikus aktivitást várhatnánk¹¹⁷. Ennek ellenére az eredmények azt mutatták, hogy a kétmagvú komplex hatékonyan hasítja a 4-nitrofenil-foszfátot (NPP) illetve az ATP-t, ugyanakkor egyáltalán nem aktív BNPP-vel illetve foszfo-triészterekkel szemben. A hidrolitikus folyamat során a két fémionhoz viszonylag gyengén kötődő apikális nitrogének szorítja ki kétszeresen negatív töltésű NPP szubsztrát, mely 1,3-hidas formában kapcsolódik a fémionokhoz. Eközben az egyik említett gyűrűnitrogén végrehajtja a nukleofil támadást a foszforatomon, miközben a másik nitrogén protonálódik. A reakció terméke foszforil-kriptand (N-P kötéssel), emellett a szubsztráttól függően 4-nitrofenol vagy ADP távozik.

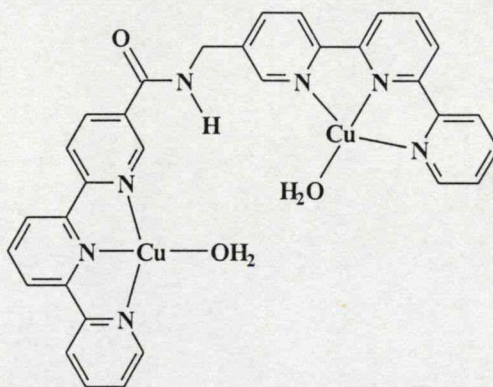
A fémionok közötti kooperáció, illetve a kettős Lewis-sav aktiválás komoly előnyeit több vizsgálat is igazolja. Chin és kutatócsoportja egy tripodális jellegű, két benzimidazolt és egy fenilláncot tartalmazó tercieramin, és annak dimer formájának réz(II)komplexeit tanulmányozta¹¹⁸. Az alapvegyület esetében egymagvú komplex képződik, míg annak származéka esetén fenoláthíd révén kétmagvú réz(II)komplex jön létre. A monomer komplex is jelentősen gyorsítja a vizsgálatokhoz használt 2-hidroxi-propil-4-nitrofenil-foszfát (HPNP) hidrolízisét, azonban a kétmagvú részecske esetében mért pszeudo elsőrendű sebességi együttható csaknem 200-szorosa a monomerre kapott értéknek. A kérdéses komplexre vonatkozó másodrendű sebességi együttható értéke 25 °C-on $\sim 2,1 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Ez csaknem harmincszorosa a hidroxidion-katalizálta folyamatra vonatkozó másodrendű sebességi együtthatónak.

Ugyancsak Chin és csoportja igazolta a már sokat emlegetett fémion-kooperáció előnyeit a 18. ábrán látható naftalin összekötő egységet tartalmazó ligandum réz(II)komplexének vizsgálatával¹¹⁹. A naftalin egység jelenléte teszi lehetővé, hogy a fémcentrumok megfelelő távolságban legyenek egymástól, ugyanakkor viszonylag merev szerkezetet biztosít a fémionok számára. A kétmagvú komplex mind a cAMP, mind az ApA hidrolízisét nagymértékben gyorsítja az autohidrolízishez képest, ez a gyorsulás 6-os pH-n előbbi szubsztrátra 8, utóbbira 5 nagyságrend. Az 1000-szeres hatékonyságbeli különbség azt sejteti, hogy a cAMP hidrolízisének mechanizmusában az egyik fémionhoz koordinált hidroxidion direkt nukleofil támadást hajt végre, és nem általános bázisként szerepel. A leglátványosabb eredmény azonban az, hogy a kétmagvú komplex cAMP esetében ~ 600 -szor, ApA-ra pedig ~ 1000 -szer reaktívabb, mint a ligandum monomer egységének tekinthető 1,4,7-triaza-ciklononán réz(II)komplexe.



18. ábra: Naftalin összekötő egységgel kapcsolt triaza-ciklononán részeket tartalmazó ligandum szerkezete¹¹⁹

További lehetséges összekötő egység lehet a Reinhoudt kutatócsoportja által alkalmazott kalixarén gyűrű, melynek megfelelő pontjaihoz kapcsolt funkciós csoportok jó koordinálódási helyet biztosítanak fémionoknak¹²⁰. Az így kialakuló kétmagvú komplexek esetében ugyancsak megfigyelhető az alkalmazott hpnp szubsztrát hatékonyabb hasítása a megfelelő egymagvú komplexhez képest. A kettős centrumok hatása nem csak a hatékonyabb hasításban, hanem a hidrolízis bizonyos szelektivitásában is megmutatkozhat. Az alábbi 19. ábrán bemutatott kétmagvú komplex a rokon egymagvú komplexénél jelentősebb, sok esetben éppen ellenkező bázis- és regioszelektivitást mutat négy különböző ciklikus nukleotid (cAMP, cGMP, cUMP és cCMP) hasítása során¹²¹. A komplex jelenlétében a cGMP-re mért sebességi együttható kb. 6-szorosa a cAMP-re mért értéknek, ugyanakkor a rokon vegyület terpiridin egymagvú réz(II)komplexe esetében a cAMP hidrolizál gyorsabban. Emellett 95 %-os szelektivitással hasítja a cUMP 3'O-P kötését, azaz a termékek döntő mennyisége 2'UMP. Ez éppen ellentétes a természetes enzimek reakcióirányával, ugyanis az enzimatis cNMP-hidrolízis során 100 %-ban a 3'-termék képződik.



19. ábra: Amidcsoporttal elválasztott terpiridin egységek réz(II)komplexe¹²¹

A három cink(II)ionot tartalmazó aktív centrum nem ismeretlen hidrolitikus enzimekben. Ilyen enzimek pl. a P1 nukleáz és foszfolipáz C, míg az alkalikus foszfatázban két cink(II) mellett egy magnézium(II)ion található az aktív centrumban²⁸. Komiyama kutatócsoportja egy olyan tercieramin alapú ligandum cink(II)komplexét vizsgálta, melyben a központi nitrogénhez három, 1:1 fémion megkötésére alkalmas, bisz(2-piridil-metil)amin tartalmú oldallánc kapcsolódik¹²². A hárommagvú komplex 3-10-szeres sebességnövekedést eredményezett különböző dinukleotidok hasítása során a 16. ábrán látható 1-es ligandum alkoholáthidas kétmagvú komplexéhez képest. Meg kell azonban jegyezni, hogy bár az összehasonlítás látványos reaktivitáskülönbséget mutat, a szerkezeti analógia az említett hárommagvú és kétmagvú komplexek között messze nem olyan tökéletes, mint Chin fentebb tárgyalt egy- és kétmagvú réz(II)komplexe esetében.

Kétmagvú lantanoidtartalmú egységek extrém gyors cAMP illetve ApA hasítást eredményeznek¹²³. Az $\text{La}_2(\text{OH})_5^+$ összetételű hidroxodimer az ApA félélettartamát 25 °C-on 1 millimólos koncentrációban 13 s-ra csökkenti, míg a cAMP hidrolízisének sebessége az alkalmazott HPLC-technikával nem is követhető. A $\text{La}_2(\text{OH})_5^+$ kétmagvú egység szerkezete nem tisztázott, így a mechanizmussal kapcsolatban is csak találgatásokra hagyatkozhatnak a szerzők.

Habár a DNS helyspecifikus hidrolízisére alkalmas mesterséges nukleáz még nem ismert, néhány szekvenciaspecifikus mesterséges RNáz előállításáról már beszámoltak a kutatók. Bashkin és kutatócsoportja 1994-ben mutatta be teljesen szintetikus modellvegyületét, mely egy oligonukleotid-lánchoz csatolt terpiridinmolekulából (illetve az ahhoz koordinálódott réz(II)ionból) épül fel¹²⁴. Az oligonukleotid-lánc kapcsolódik a célmolekula (HIV gag-mRNS) megfelelő szakaszához, míg a terpiridin- $\text{Cu}(\text{II})\text{-OH}^+$ egység végzi a hasítást. Bár a tapasztalt aktivitás még messze elmarad a tényleges gyakorlati felhasználáshoz szükségességtől, ezek az eredmények megalapozták újabb szintetikus RNáz modellek előállítását¹²⁵⁻¹²⁷. Az eddigi ismereteink arra utalnak, hogy a gyakorlati felhasználásra is alkalmas mesterséges nukleázok előállításához járható út lehet a nagy hatékonyságú hidrolitikus modellkomplexek szintézise.

3. Mérési módszerek és kísérleti körülmények

3.1. Egyensúlyi és szerkezetvizsgáló módszerek, mérési körülmények

3.1.1. pH-metria

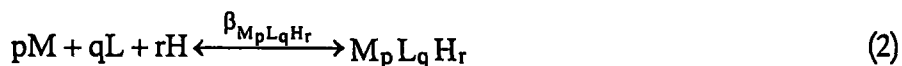
Az oldatbeli egyensúlyi vizsgálatokhoz, a protonálódási és komplexképződési állandók meghatározásához potenciometriás módszert alkalmaztunk. A módszer alkalmazhatóságának elvi háttere az, hogy a vizsgált folyamat valamilyen módon az oldatbeli hidrogénion-koncentráció megváltozását okozza, mely az üvegelektrod által érzékelt potenciálváltozást eredményez. Az általunk tanulmányozott rendszerek mindegyike megfelel ennek a követelménynek.

A mérésekhez használt vegyszerek többsége analitikai tisztaságú gyári termék volt, ezeket további tisztítás nélkül alkalmaztuk. Néhány vegyületet kutatócsoportunk vagy más csoportok állítottak elő, ezek előállítását és tisztaságát a 4. fejezet tárgyalja.

A pH-metriás titrálásokat vizes közegben ill. egy rendszer esetében 65 tömeg%-os etanol/víz elegyben végeztük. (Ez utóbbi mérés elvi hátterét és körülményeit később részletezem.) A méréseket állandó hőmérsékleten (25 °C) és állandó ionerősség (0,1 M) mellett végeztük. Az ionerősség beállítására leggyakrabban analitikai tisztaságú NaClO_4 -ot (Fluka) használtunk, de egy-egy rendszernél oldhatósági okokból NaCl -ot (Reanal) illetve NaNO_3 -ot (Reanal) alkalmaztunk. A CO_2 távoltartására oldatainkba vagy az oldatok fölé inert gázt, nitrogént vagy argont buborékolattunk. A mérőoldat NaOH (Fluka) $\sim 0,1$ mólos koncentrációjú vizes (vagy 65 tömeg%-os etanol/víz-es) oldata volt, melyet ioncserélt, szűrt és kiforralt vízből (valamint Reanal abs. etanolból) készítettünk. A mérőoldat hatóértékét pontos beméréssel készített kálium-hidrogénftalát (Fluka) oldat titrálásával határoztuk meg. A titrálásokat IBM-kompatibilis PC által vezérelt Dosimat 665 típusú Metrohm automata bürettárból és Orion 710A precíziós pH-mérőből álló berendezéssel végeztük. Az Orion 8103BN típusú szemimikro kombinált üvegelektrod kalibrálásához egy erős sav (HClO_4) és egy gyenge sav (tris(hidroximetil)-metilamin, $\text{pK} = 8,07$ (Aldrich)) keverékének oldatát titráltuk. Az így nyert $E_{\text{rel,mV}}$ vs. V_{ml} adatsorok értékelése az alábbi, módosított Nernst-egyenlet alapján történt¹²⁸,

$$E = E_0 + K \cdot \log[\text{H}^+] + J_{\text{H}} \cdot [\text{H}^+] + \frac{J_{\text{OH}} \cdot K_{\text{w}}}{[\text{H}^+]} \quad (1)$$

melyben az ismert paraméterek mellett J_{H} és J_{OH} az üvegelektrod savas illetve lúgos hibájának, valamint a folyadék–folyadék határfelületi potenciálból adódó hibáknak a korrekciójára szolgáló illesztési paraméterek, $K_{\text{w}} = 10^{-13,75} \text{ M}^2$ pedig a víz autoprotolízis-állandója¹²⁹. A paraméterek kiszámítása a nemlineáris legkisebb négyzetek módszere szerint történt. A rendszerekben képződő részecskék az alábbi általános egyensúlyi összefüggésekkel jellemezhetők,



$$\beta_{\text{M}_p\text{L}_q\text{H}_r} = \frac{[\text{M}_p\text{L}_q\text{H}_r]}{[\text{M}]^p \cdot [\text{L}]^q \cdot [\text{H}]^r} \quad (3)$$

melyben M a fémiont, L pedig rendszerint a nemprotonált ligandummolekulát jelöli. Ezek alapján a megfelelő protonálódási és komplexképződési állandók ($\beta_{M_pL_qH_r} \equiv \beta_{pqr}$) kiszámítását a PSEQUAD¹³⁰ nevű számítógépes programmal végeztük. Az említett állandók meghatározása 4-10 független titrálással történt, az egyes adatsorok egyenként 80-110 adatpontot tartalmaztak. A fém-ligandum arányt, rendszertől függően 2:1 és 1:3 között, míg a fémion-koncentrációt $5 \cdot 10^{-4}$ – $5 \cdot 10^{-3}$ M tartományban változtattuk.

A 65 tömeg%-os etanol-víz oldószerkeletben végzett mérések során és az oldataink elkészítésekor a fentebb megadott körülményeket és módszereket alkalmaztuk, de az oldószer minden oldat esetében abs. etanol és desztillált víz elegye volt. A megadott elektródot vizes pufferekre kalibráltuk (pH = 4,00; 7,00; 10,00; Fluka), majd a titrálások során leolvasott pH-értékeket a Bates által megadott összefüggések alapján korrigáltuk^{131,132},

$$^s\text{pH} = \text{pH}_w - \delta \quad (4)$$

ahol ^spH jelzi a valós hidrogénion koncentráció negatív logaritmusát (s az adott fejezetben ezt jelöljük pH-nak), pH_w a pH-mérőn leolvasott érték, δ pedig a korrekciós tényező, mely magába foglalja a diffúziós és folyadék-folyadék határfelületi potenciált valamint az oldószerkelet elsődleges közeghatásait. A korrekciós tényező (δ) értéke esetünkben 0,24, míg az általunk meghatározott vízionszorzat ($\text{pK}_w = -14,92 \pm 0,02$) jó egyezést mutat az irodalomban talált értékkel¹³³.

3.1.2. Spektrofotometria

Az elektrongerjesztési spektrumokat egy Hewlett Packard 8452A típusú diódasoros spektrofotométeren vettük fel. A mérések során alkalmazott réz(II)ion-koncentráció $5 \cdot 10^{-3}$ - $3 \cdot 10^{-4}$ M tartományban volt. A vizsgálatokat rendszerint a 200–820 nm-es hullámhossztartományban végeztük. A koncentrációtól és a vizsgált hullámhossztartománytól függően 0,2, 0,5, 1,0, 3,0 vagy 5,0 cm-es küvetákat használtunk. A réz(II)komplexek egyedi spektrumainak kiszámításához a korábban említett PSEQUAD programot alkalmaztuk.

3.1.3. ESR- és NMR-spektroszkópia

Az ESR-spektrumokat Budapesten (BME), Dr. Rockenbauer Antal és Dr. Korecz László segítségével egy JEOL-JES-FE 3X típusú spektrométeren vettük fel az X-sávban, 100 kHz termomodulációval 298 és 77 K hőmérsékleten. A méréseknél alkalmazott réz(II)ion koncentráció $4 \cdot 10^{-3}$ M volt. A fagyasztott mintákhoz a jég szerkezetének megtörése céljából 5-10 % etanoltadtunk. A mágneses tér hitelesítésére mangán(II)ionnal szennyezett MgO por szolgált. Az ESR-paraméterek kiszámításához a Dr. Rockenbauer Antal által írt, fagyasztott spektrumok esetén 2, míg szobahőmérsékletű spektrumok esetén 2×2 részecske együttes kezelésére alkalmas programot használtuk¹³⁴.

Az NMR-spektrumokat Szegeden illetve a Nancy-i Egyetemen Bruker AM-360, Bruker Avance DRX 500 és Bruker 400DRX spektrométereken vettük fel. A minták vizes oldatban készültek 5-10 % D_2O (Aldrich) alkalmazásával, vagy tiszta D_2O -ban. Egy rendszer esetében deuterált metanol (CD_3OD , Aldrich) és D_2O 75 tömeg%-os elegyét használtuk. A megadott pH-értékek rendszerint a pH-mérőről leolvasott, izotópeffektussal nem korrigált pH- ill. pD-értékek.

A deuterált oldatok pH-ját fémnátrium D₂O-ban történő feloldásával készített NaOD oldatokkal állítottuk be. A kémiai eltolódás értékeket (δ) dioxán (Reanal) belső referens alkalmazásával Me₄Si-ra vonatkoztatva adtuk meg (3,700 ppm ¹H NMR, 67,4 ppm ¹³C NMR). Az alkalmazott fémion-koncentrációk rendszertől függően 5·10⁻³ – 7,5·10⁻² M, míg a ligandumok koncentrációi 5·10⁻³ – 1,5·10⁻¹ M tartományban változtak. Az NMR-spektrumok értékeléséhez Mestre-C valamint a Nancy-i Egyetemen készített Rmnyw programokat használtuk.

3.1.4. Mössbauer-spektroszkópia

A gyorsfagyasztott oldatminták ¹¹⁹Sn Mössbauer-spektrumait 77 K-en, állandó gyorsulás módban egy hagyományos Ranger spektrométeren Budapesten (ELTE) vettük fel 0,3 és 0,4 GBq aktivitású BaSnO₃ forrás alkalmazásával. A spektrumok illesztését Dr. Vankó György végezte számítógépes program segítségével, a legkisebb négyzetek módszere alapján Lorentz-görbéket illesztve az adatsorokra. A Mössbauer-paraméterek reprodukálhatósága 0,02 mm·s⁻¹ (izomer eltolódás (δ)) és 0,04 mm·s⁻¹ (kvadrupólusfelhasadás (Δ_{exp})) volt. Az izomer eltolódás értékeket rendszertől függően BaSnO₃-ra vagy SnO₂-ra vonatkozóan adtuk meg. A mérések során 2:1 ligandum-fémion arányt alkalmaztunk, ennek megfelelően a minták dimetil-ón(IV)ion koncentrációja 7,5·10⁻² és 1,0·10⁻¹ M, míg a megfelelő ligandumkoncentráció 1,5·10⁻¹ és 2,0·10⁻¹ M volt. A mért kvadrupólusfelhasadás értékeket (Δ_{exp}) összehasonlítottuk a lehetséges ón körüli koordinációs geometriákra vonatkozó parciális kvadrupólusfelhasadás-elmélet (PQS)¹³⁵⁻¹³⁷ alapján számolható értékekkel (Δ_{calc}). A trigonális bipiramisos geometriájú komplexek különböző funkciós csoportjai az alábbi parciális kvadrupólusfelhasadás értékekkel (Δ_{calc} , mm·s⁻¹) rendelkeznek:

Axiális pozícióban:

$$\{\text{Me}\} = -0,94, \{\text{COO}^-\}_{\text{kétfogú}} = 0,075, \{\text{COO}^-\}_{\text{egyfogú}} = -0,10, \{\text{O}^-\} = -0,21, \\ \{\text{O}=\text{C}(\text{R})\text{N}\} = 0,16 \text{ és } \{\text{N}\}_{\text{peptid}} = -0,37.$$

Ekvatoriális pozícióban:

$$\{\text{Me}\} = -1,13, \{\text{COO}^-\}_{\text{kétfogú}} = 0,293, \{\text{COO}^-\}_{\text{egyfogú}} = 0,06, \{\text{O}^-\} = -0,09, \\ \{\text{O}=\text{C}(\text{R})\text{N}\} = 0,407, \{\text{N}\}_{\text{peptid}} = -0,30.$$

3.1.5. Röntgenkristallográfia

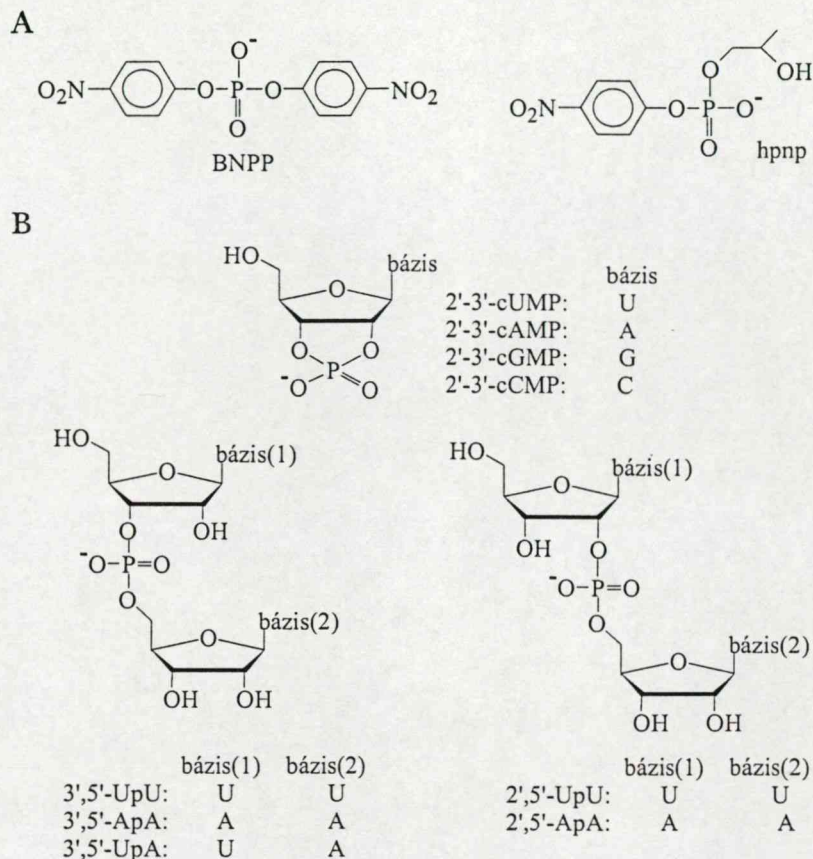
A röntgenkristallográfiás mérések a Münsteri Egyetemen készültek. A röntgendiffrakciós adatok gyűjtése egy STOE IPDS diffraktométeren történt 213 K hőmérsékleten, a Mo K α -sugárzását ($\lambda = 0,71073$ Å) használva. A szerkezetek megoldásához a közvetlen módszert alkalmaztuk¹³⁸, finomításuk a teljes mátrix legkisebb négyzetek módszerével a

$$\sum w(F_0 - F_c)^2 \quad (5)$$

függvény minimalizálásával történt¹³⁹, melyben F_0 és F_c a mért és számolt szerkezeti tényezők. A nemhidrogén-atomokra rendszerint anizotróp hőmérsékleti paramétereket alkalmaztunk. A hidrogénatomokat a "riding model" segítségével vettük figyelembe a szerkezetfinomítás során. Az egyes kristályok előállítását, a szerkezetek részletes elemzése valamint a kristallográfiás adatok (az adatgyűjtés és a szerkezetanalízis részletei) a Függelékben találhatók. (A részletes röntgenkristallográfiás adatok hozzáférhetők a Cambridge Crystallographic Data Centre-nél is, e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk.)

3.2. A kinetikai mérések elvi alapjai, módszerek és körülmények, modellszubsztrátok

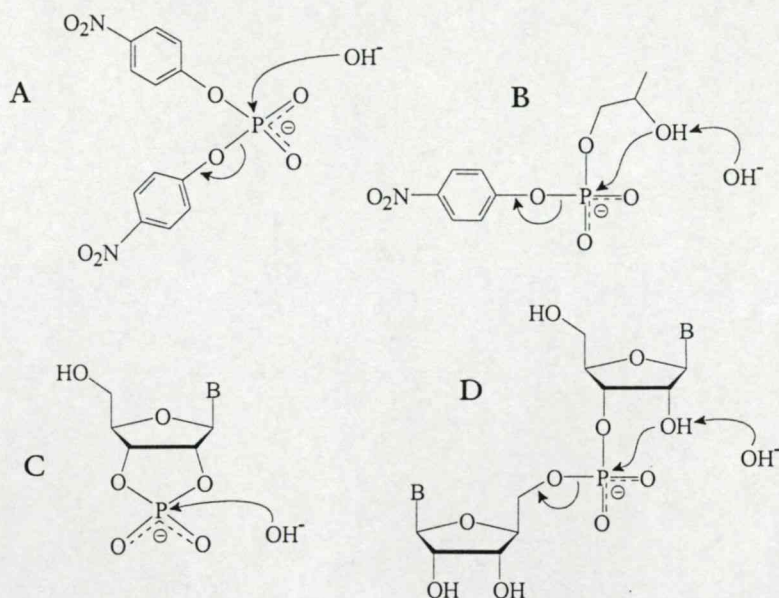
3.2.1. Modellszubsztrátok



20. ábra: A tanulmányozott modellszubsztrátok szerkezete

A dolgozat 5.2. fejezetében bemutatott funkcionális modellvizsgálatok a tárgyalt fémkomplexek különböző foszfátészter-kötést tartalmazó ún. modellszubsztrátokra gyakorolt hidrolitikus aktivitásával foglalkoznak. Az irodalmi áttekintésben már több esetben szerepelt az aktivált és nemaktivált foszfátészter kifejezés, amely alapján a tanulmányozott szubsztrátokat két kategóriába lehet sorolni. Köztük az alapvető különbséget az jelenti, hogy a nemaktivált észterek nem tartalmaznak jó távozó csoportot, azaz a hidrolízis folyamatának egyik kulcslépése, a lehasadó csoport eltávolítása nem aktivált. Ennek oka az, hogy a távozó alkoholát hidroxilcsoportjainak pK -ja 12-14 közötti érték. Ezzel összehasonlítva az aktivált foszfátészterek gyakori távozó csoportja, a p -nitrofenolát kb. 7-es pK -val rendelkezik. Mindez azt is jelenti, hogy az egyes modellkomplexek nem feltétlenül segítik elő aktivált és nemaktivált foszfátészterek hidrolízisét is. A 20A-B. ábrán látható a felhasznált aktivált és nemaktivált foszfátészterek szerkezete. A 21A-D. ábra a felhasznált négy eltérő típusú szubsztrát hidroxidion katalizált hidrolízisének folyamatát vázolja, melyen megfigyelhetők a mechanizmusbeli eltérések.

A DNS-modellnek tekinthető BNPP (Aldrich) hidrolízise során (a 6. ábrán bemutatottakhoz hasonlóan) a OH^- ion nukleofil támadást hajt végre a foszforatomon, majd az átmeneti termék pentakovelens foszforán intermedier az egyik nitrofenolátcsoport lehasadásával stabilizálódik, melynek révén a keletkező termékek a nitrofenolácion és NPP (21A. ábra). Természetesen újabb OH^- ion támadásával a másik észterkötés is hidrolizálhat.



21. ábra: A modellszubsztrátok hidroxidion-katalizált hidrolízisének mechanizmusa

Az RNS-modell hpnp (egy münsteri kutatócsoport állította elő) hidrolízise a 2-hidroxi-propilcsoport aktiválásával indul, amely ezután a nukleofil támadást végrehajtja a foszforatomon (21B. ábra). Az intermediér termék stabilizálódása a nitrofenolátion távozásával történik meg. Az áteszteresítési reakcióban ciklikus foszfátészter keletkezik, azaz a hpnp hidrolízise az RNS hidrolízisének első lépését modellezi.

A ciklikus nukleotidok hasítása modellezi az RNS-hidrolízis második lépését, vagyis a ciklikus foszfátészter gyűrűnyitását. A nukleofil támadást a OH^- ion hajtja végre a foszforatomon, melynek eredménye a 2'-O-P vagy 3'-O-P kötés meggyengülése majd hasadása (21C. ábra). A keletkező termékek: foszfátion és 2'NMP vagy 3'NMP. (cUMP, cAMP, cGMP és cCMP: Sigma termékek.)

A dinukleotidok megfelelő modelljei az RNS-molekuláknak, hidrolízisük teljesen azonos módon játszódhat le. A OH^- ion aktiválja a szabad 2'OH- vagy 3'OH-csoportot, amely támadja a parciálisan pozitív töltésű foszforatomot (21D. ábra). Az áteszteresítési reakció második lépése az 5'O-P kötés hasadása, melynek révén a megfelelő nukleozid illetve a 2',3'-cNMP képződik. Ennek további hidrolízise a fentebbiek szerint megy végbe. (A felhasznált dinukleotidok Sigma termékek voltak.)

3.2.2. Az aktivált észterek vizsgálata (spektrofotometria)

Az alkalmazott aktivált foszfátészterek hidrolízise során az egyik távozó csoport a közeg pH-jától függően 4-nitrofenol vagy 4-nitrofenolátion. Ez utóbbi 400 nm-nél jellegzetes, rendkívül intenzív abszorpciós sávval bír ($\epsilon = 18900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), melynek detektálása révén a hidrolízis folyamata spektrofotometriásan követhető. A deprotonált termék említett sávja lehetőséget ad a sebességi állandóknak a kezdeti sebességből való kiszámítására. Ezt a módszert alkalmaztuk a sebességi együttható pH-tól, fém-ligandum aránytól, illetve komplex-koncentrációtól való függésének meghatározásakor. Minden esetben figyelembe vettük a pH hatását a 4-nitrofenolát koncentrációjára, ugyanis a hidrolízis során képződő 4-nitrofenol ($\text{pK} = 6,98$, 65 tömeg%-os etanol-víz elegyben: 8,04) a vizsgálatok pH-tartományában deprotonálódik.

A komplex részvételével lejátszódó folyamat bimolekulás reakció, s amennyiben katalitikus (katalitikus ciklusszám > 1) az alábbi egyszerűsített egyenlettel írható le,

$$K + S = K + P \quad (6)$$

ahol K a komplexet, S a szubsztrátot, P pedig a terméket jelöli. A folyamat pontos jellemzése másodrendű sebességi együtthatóval lehetséges (k_2). A vizsgált rendszerekben, a reakció ideje alatt, adott pH-n, a komplex koncentrációja állandónak tekinthető, így a folyamat pszeudo elsőrendű reakcióként kezelhető.

A keletkező termék koncentrációjának változása a következő egyenlettel adható meg,

$$[P]_t = [S]_0 \cdot (1 - e^{-kt}) \quad (7)$$

melyben $[S]_0$ a szubsztrát kezdeti koncentrációját, t az eltelt időt, míg k a pszeudo elsőrendű sebességi együtthatót jelöli. A kifejezést a Lambert-Beer-törvénybe ($A = \epsilon[P] \cdot l$) helyettesítve a

$$A = A_0 + \epsilon \cdot l \cdot [S]_0 \cdot (1 - e^{-kt}) \quad (8)$$

8. egyenlethez jutunk. (A_0 a 0 időpillanatban mért abszorbancia, vagyis az alapvonal.) A zárójeles kifejezés Taylor-polinommal sorba fejthető, és a polinom első két tagjával a szubsztrát 4–5 %-os konverziójáig igen pontosan közelíthető. Az egyszerűsített egyenlet átrendezésével a pszeudo elsőrendű együttható kifejezhető:

$$k = \frac{A - A_0}{t \cdot \epsilon \cdot l \cdot [S]_0} \quad (9)$$

(Az egyenletben $(A - A_0)/t$ az A vs. t függvény meredeksége 4–5 %-os konverzióig.) A másodrendű sebességi együttható számításához a pszeudo elsőrendű együtthatók komplex-koncentrációtól való függését kell meghatározni.

Természetesen adott esetben, pl. az aktív komplexre vonatkozó katalitikus ciklusszám meghatározásakor szükség lehet a teljes kinetikai görbe kimérésére, ehhez – a termék rendkívül nagy moláris abszorbanciája miatt (ϵ) – az egyes időpontokban vett minták megfelelő pH-jú pufferrel történő hígítására van szükség.

Egyes rendszerekben a szubsztrát/komplex koncentrációarány növelésével ún. telítési kinetikai méréseket is végeztünk, melynek célja, hogy információt nyerjünk a folyamat mechanizmusára vonatkozóan. Az ilyen típusú reakciók rendszerint követik a Michaelis-Menten mechanizmust, azaz a folyamat a komplex és a szubsztrát között egy előegyensúly révén kialakuló átmeneti komplexen keresztül játszódik le. Az alábbi egyszerűsített egyenlet ezt a folyamatot mutatja be, kiegészítve az egyes lépésekre jellemző paraméterekkel,



ahol k' és k'' az előegyensúly oda- és visszairányú reakciójára jellemző, k_{cat} pedig a katalitikus sebességi együttható. Ezek között további összefüggések írhatók fel,

$$\frac{k'}{k''} = K_{ass} \quad (11) \quad \frac{k'' + k_{cat}}{k''} = K_M \quad (12) \quad K_{ass} \times k_{cat} = k_2 \quad (13) \quad (11-13)$$

melyekben K_{ass} asszociációs állandó és K_M Michaelis-Menten konstans az átmeneti termék stabilitását jellemzi, k_2 pedig a másodrendű sebességi együttható. Ezekben a modellreakciókban

k_{cat} rendszerint kis érték, k'' mellett elhanyagolható, így K_M egyszerűsítve K_{ass} reciproka. A telítési kinetikai vizsgálatokból ezen paraméterek meghatározhatók, emellett ellenőrizhető a más módszerrel meghatározott k_2 másodrendű együttható helyessége is.

A kinetikai mérésekhez összeállított minták pH-jának állandó értéken tartásához 0,02–0,06 M koncentrációban biológiai puffereket alkalmaztunk (CHES, HEPES, HEPPS, MES (Aldrich, Sigma)). Az oldatok pontos pH-értékeit NaOH és a háttélektrolitnak megfelelő savoldatok adagolásával állítottuk be. A pH beállítása során, folyamatos keverés mellett inert gázt (Ar) buborékolattunk át a rendszeren. Az állandó hőmérsékletet termosztáttal biztosítottuk. Az elektród kalibrálását 4,00-es, 7,00-es és 10,00-es ($\pm 0,01$) pH-jú, kereskedelmi forgalomban kapható standard pufferekkel (Sigma) végeztük.

3.2.3. A nemaktivált észterek vizsgálata (HPLC)

A nemaktivált foszfátészterek hidrolízisének terméke valamilyen nukleozid, ciklikus nukleotid vagy valamely 2'- vagy 3'-nukleozid-monofoszfát. Ezek mindegyike – a purin- vagy pirimidinbázis résznek köszönhetően – jellemző UV elnyeléssel rendelkezik ~ 260 nm-nél. Az elnyelési maximum helye valamelyest függ a bázistól: adeninre és uracilra $\lambda_{max} = 260$ nm, guanin esetében 252 nm, míg citozinra 268 nm. Mivel mind a kiindulási szubsztrátok, mind a termékek ugyanazon hullámhosszon detektálhatók, így a folyamat követése csak szétválasztásuk révén lehetséges. A probléma HPLC-technika alkalmazásával oldható meg, az eluálószer helyes megválasztása esetén lehetséges a kiindulási anyagok és termékek szétválasztása, s ezek koncentrációarányának megváltozása révén a reakció követése, s a sebességi együttható meghatározása. A pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók nagyobb megbízhatósága érdekében az aktivált észterek hidrolízisét rendszerint végig (a félélettartam 3-4-szereséig) követtük, s a (14)

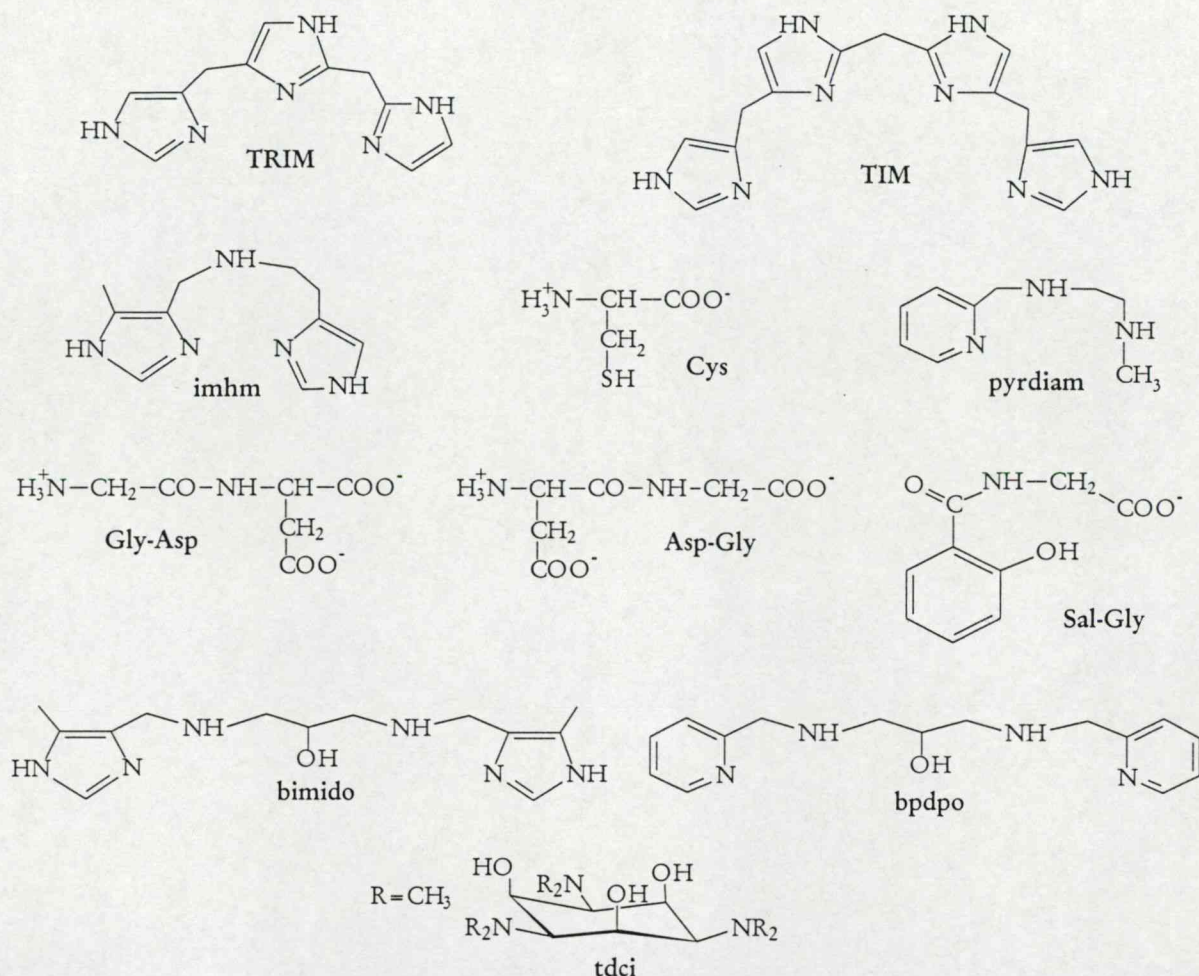
$$A_t = A_0 \cdot e^{-k_{obs}t} \quad (14)$$

függvény legkisebb négyzetek módszerével való illesztésével számoltuk ki k_{obs} pszeudo elsőrendű sebességi együttható értékét. Az egyenletben A_0 és A_t a [szubsztrát]/([szubsztrát]+[termék]) hányados kezdeti és t időpillanathoz tartozó értéke, melyet az egyes kromatográfiás csúcsok területeinek aránya ad meg. Az oldatmintákat a reakció teljes ideje alatt a megfelelő hőmérsékletű (25, 35, 37 °C) vízfürdőben tartottuk, s azokról megfelelő időközönként 50-100 μ l mintát kivettünk. A reakció pillanatszerű leállításához ugyanekkora térfogatú eluálószer (összetétel lentebb megadva) adtunk hozzá a kivett oldatrészlethez. A reakcióelegyek pH-értékeinek beállítását az előző fejezetben leírtak szerint végeztük, pufferként egy-két kivételtől eltekintve HEPES (0,03 M) és CHES (0,03 M) keverékét alkalmaztuk. A pH-értékeket a mérések végén ellenőriztük. A szubsztrátok kezdeti koncentrációja 0,05–0,1 mM volt.

A kromatogramokat Merck és Perkin Elmer típusú HPLC-rendszereken vettük fel, Merck Lichrospher 100 RP-18 (150×4 mm, 5 μ m) illetve Hypersil ODS RP-18 (150×4 mm, 5 μ m) oszlopokat használva. Az eluens 0,025 M koncentrációjú pH pH=4,3 acetátpuffer (0,1 M NH_4Cl háttélektrolittal) volt, mely rendszertől függően 0–15 % acetonitrilt tartalmazott. Az esetek többségében izokratikus elúciót végeztünk, de néhány alkalommal a tökéletes elválasztás érdekében szükség volt az acetonitrilkoncentráció pillanatszerű vagy gradiens jellegű változtatására.

4. A tanulmányozott ligandumok és előállításuk

A 22. ábra összefoglalja a vizsgált ligandumokat, azok szerkezetét és rövidített nevüket. Az egyszerűség kedvéért a továbbiakban ezeket a rövidítéseket fogom használni.



22. ábra: A tanulmányozott ligandumok szerkezete

A ligandumok, néhány kivételtől eltekintve, kereskedelmi forgalomban nem kaphatók, azokat kutatócsoportunk vagy együttműködés keretében más (francia, német) kutatócsoportok állították elő. A glicil-*L*-aszparaginsav (Gly-Asp), *L*-aszpartil-glicin (Asp-Gly), 2-hidroxihippursav (szalicil-glicin, Sal-Gly) és *L*-cisztein (Cys) Sigma-termékek voltak, azokat további tisztítás nélkül használtuk fel. Az 1,3,5-tridezoxi-1,3,5-trisz(dimetilamino)-*cisz*-inozitol (TDCI) ligandumot Kaspar Hegetschweiler (Saarbrückeni Egyetem) bocsátotta rendelkezésünkre. A 4-(imidazol-4-ilmetil)-2-(imidazol-2-ilmetil)-imidazol (TRIM) és bisz[4-(imidazol-4-ilmetil)-imidazol-2-il]metán ligandumokat Etienne Mulliez (Grenoble-i Egyetem) állította elő¹⁴⁰. A további négy ligandum előállítása azonos reakcióséma szerint történt. A megfelelő aldehid és amin reakciója (alkoholos közegben) Schiff-bázis képződésére vezet, melynek redukciója eredményezi a terméket. Az imhm, pyrdiam és bimido ligandumokat kutatócsoportunk állította elő elsőként. A bdpdo szintézisének kisebb módosításokkal az irodalomban közölt receptet követtük¹⁴¹.

Az egyes ligandumok előállítása az alábbiak szerint történt:

N-(imidazol)-4-ilmetil-5-metil-hisztamin · 3HCl (imhm · 3HCl):

Hisztamin-dihidrokloridot (1,841 g, 10 mmol, Aldrich) 30 ml abs. etanolban oldottunk, majd számított mennyiségű, etanolban oldott 1 mólos KOH oldattal közömbösítettük. Az oldatot 0,5 óráig kevertük, majd a kivált sót (KCl) leszűrtük. A csapadékmentes hisztaminoldathoz 20 ml etanolban oldott 5-metil-imidazol-4-karboxaldehidet (1,101 g, 10 mmol, Sigma) adtunk. Szobahőmérsékleten, folyamatos keverés közben néhányszor mintát vettünk és a Schiff-bázis képződését vékonyréteg-kromatográfiával követtük. 2 óra elteltével rendkívül óvatosan aktív szénre felvitt palládiumkatalizátort (Fluka) adtunk az etanolos oldathoz, majd a reakciót, a Schiff-bázis teljes redukcióját, H₂ gáz 5 órán át tartó buborékolatásával fejeztük be. A kiindulási anyagok, a Schiff-bázis és a termék jelenlétét tömegspektrometriás módszerrel ellenőriztük. Az oldat eredeti térfogatát etanol adagolásával biztosítottuk. A redukció befejezése után a tiszta, sárgás színű oldaton ~15 percig HCl gázt buborékolattunk át, amíg az oldat kellően savas lett (pH ~ 1-2). Bepárlást követően a fehér színű terméket leszűrtük, majd etanolból átkristályosítottuk. A kitermelés: 2,25 g, 71,5 %. A termék szerkezetét és tisztaságát pH-metriás titrálással és ¹H NMR-spektroszkópiával ellenőriztük. ¹H NMR (vizes közeg, δ(ppm)): δ = 8,604 (s, 1 H, C²_{im}-H), 8,604 (s, 1 H, C²_{im}-H), 7,330 (s, 1 H, C⁵_{im}-H), 4,388 (s, 2 H, im-CH₂-NH), 3,418 és 3,171 (t és t, ³J = 7,56 Hz, 2 H és 2 H, NH-CH₂-CH₂-hm), 2,345 (s, 3 H, CH₃-im).

N-metil-N'-(2-ilmetil-piridin)-etiléndiamin · 2HCl (pyrdiam · 2HCl):

Piridin-2-karboxaldehidet (1,071 g, 10 mmol, Sigma) és N-metil-etiléndiamint (0,741g, 10 mmol, Sigma) 60 ml abs. etanolban feloldottunk. Az oldatot szobahőmérsékleten 2 óráig kevertettük, a Schiff-bázis képződését vékonyréteg kromatográfiával követtük. Aktív szénre felvitt palládium katalizátor (Fluka) óvatos adagolása után az etanolos oldatba 3 órán keresztül H₂ gázt buborékolattunk. Az elpárolgó etanolt a folyamat során pótoltuk. A redukció lejátszódása után HCl gázt vezettünk az oldatba, melynek hatására a termék kristályosodása megkezdődött, sárgásfehér színű kristályok képződtek. Etanolból történő átkristályosítás után fehér színű, tűalakú kristályokat kaptunk, mely a termék dihidroklorid formája, tömege 1,6 g volt (kitermelés: 67 %). A termék tisztaságát pH-metriás titrálással ellenőriztük.

N-N'-bisz(5-metil-imidazol-4-ilmetil)-1,3-diamino-propán-2-ol · 4HCl (bimido · 4HCl):

5-metil-imidazol-4-karboxaldehidet (1,67 g, 15 mmol, Sigma) és 1,3-diamino-2-propanolt (0,70 g, 7,5 mmol, Fluka) 60 ml metanolban feloldottunk. Az oldathoz folyamatos keverés közben, kis részletekben 1,2 g nátrium-borohidridet (Sigma) adtunk. Szobahőmérsékleten történő 3 órás kevertetés után az oldatot 1 órán keresztül refluxáltuk, majd koncentrált sósav adagolásával megsavanyítottuk. A kiváló csapadékot (NaCl) leszűrtük, az oldatot 2-3 ml-re pároltuk, majd 30 ml metanolt adtunk hozzá. A csapadékot ismét leszűrtük, majd az oldatot etanol adagolása után szárazra pároltuk. A nyers terméket metanolból kétszer átkristályosítottuk. Kitermelés: 2 g, 63 %. A termék szerkezetét és tisztaságát pH-metriás titrálással és ¹H NMR-spektroszkópiával ellenőriztük. ¹H NMR (D₂O, δ(ppm)): δ = 8,63 (s, 2H, C2-H(im)), 4,43 (s, 4H, CH₂-im), 4,34 (m, ³J = 4,0 és 11,3 Hz, 1H, CH-OH), 3,30 és 3,16 (m, ²J = 15,8 Hz, ³J = 4,0 és 11,3 Hz, 2H + 2H, CH₂-CH) és 2,36 (s, 6H, CH₃-im). Egyéb jelet nem detektáltunk.

***N-N'*-bisz(2-piridilmetil)-1,3-diamino-propán-2-ol · 4HCl (bpdpo · 4HCl):**

A ligandumot az imido-ra leírtak kis változtatásával állítottuk elő. 20 ml 1,8 g 1,3-diamino-2-propanolt (20 mmol, Fluka) tartalmazó metanolos oldathoz 4,28 g 5-metil-imidazol-4-karboxaldehidet (40 mmol, Sigma) adtunk, majd az elegyet szobahőmérsékleten 12 óráig kevertettük. 30 ml metanol hozzáadása után folyamatos keverés mellett, kis részletekben 2 g nátrium-borohidridet (Sigma) adagoltunk. Szobahőmérsékleten történő további 3 órás kevertetés után az oldatot 1 órán át refluxáltuk, majd szárazra pároltuk. A szilárd anyagot 50 ml kloroformban oldottuk, és 3-szor 10 ml vízzel extraháltuk. A kloroformos fázist vízmentes MgSO_4 -tal "szárítottuk", leszűrtük, majd ismét szárazra pároltuk. A szilárd terméket 80 ml etanolban újraoldottuk, majd 8 ml koncentrált sósav hozzáadásával savanyítottuk. A fehér csapadékot leszűrtük és metanolból kétszer átkristályosítottuk. Kitermelés: 5,5 g, 66 %. A termék szerkezetét és tisztaságát pH-metriás titrálással és ^1H NMR-spektroszkópiával ellenőriztük. ^1H NMR (D_2O , $\delta(\text{ppm})$): $\delta = 8,77$ (d, $^3J = 5,2$ Hz, 2H, pyrH), $8,42$ (m, $^3J = 7,8$ és $8,2$ Hz, $^4J = 1,5$ Hz, 2H, pyrH), $7,99$ (d, $^3J = 8,2$ Hz, 2H, pyrH), $7,91$ (m, $^3J = 7,8$ és $5,2$ Hz, 2H, pyrH), $4,45$ (m, $^3J = 9,6$ és $3,0$ Hz, 1H, CH-OH), $3,42$ és $3,29$ (m, $^2J = 13,0$ Hz, $^3J = 9,6$ és $3,0$ Hz, 2H + 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}$) és $3,29$ (s, 4H, pyr- CH_2 -). Egyéb jelet nem detektáltunk.

5. Eredmények és tárgyalásuk

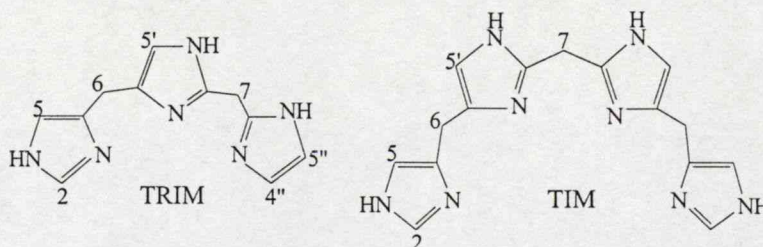
5.1. Egyensúlyi és oldatszerkezeti vizsgálatok

Egyensúlyi- és oldatszerkezeti vizsgálatainkat a ligandumok szerkezetbeli hasonlóságai ill. különbségei szerint négy alfejezetre bontva érdemes tárgyalni (22. ábra).

5.1.1. A csak imidazolgyűrűt tartalmazó ligandumok és átmenetifém-komplexeik egyensúlyi és oldatszerkezeti vizsgálata

A három és négy imidazolgyűrűt tartalmazó TRIM és TIM ligandumok egyéb potenciális donorcsoportok hiányában lehetővé teszik, hogy az poliimidazol-koordináció egyedi hatásait tanulmányozzuk réz(II)- és cink(II)komplexeik képződése során. Mint arról már a bevezetőben volt szó, a több imidazolgyűrű által kötött fémcentrumok gyakoriak metalloproteinekben, így a két ligandum fémkomplexei kiváló szerkezeti modelljei ezen centrumoknak.

Protonálódási állandók: A ligandumok protonálódási állandóit illetve a képződő komplexek stabilitási állandóit pH-metriás titrálásokkal határoztuk meg, s azokat a 1. táblázat foglalja össze. A meghatározott pK-értékek mindkét ligandum esetében átlapoló deprotonálódási folyamatokra utalnak. A C(2)H hidrogén(ek) ^1H NMR-jele kémiai eltolódásának pH-függése alapján azonban a TRIM pK₃ értékét és a TIM pK₃ és pK₄ állandóit döntően a 4-es helyzetben szubsztituált imidazolgyűrűkhöz lehet rendelni (23. ábra). Eszerint pK₁ és pK₂ értékek a 2-es helyzetben szubsztituált gyűrűkhöz rendelhetők. A meglehetősen alacsony első pK-k jó egyezést mutatnak egyéb 2-2'-pozícióban kapcsolt imidazol vegyületekre meghatározott állandókkal^{12,18}. Az alacsony pK-értékek magyarázata a TRIMH₂ illetve TIMH₃ részecskékben a 2-helyzetben szubsztituált gyűrűk között fellépő erős hidrogénhidás kölcsönhatásban keresendő.



23. ábra: A TRIM és TIM sematikus szerkezete

TRIM-komplexei: A TRIM–réz(II) és TRIM–cink(II) rendszerekben pH-metriás titrálásokat végeztünk a pH 1,8–7,3 és 1,8–8,0 tartományokban. Ezen pH-értékek felett csapadék képződött, mely meggátolta a lúgos pH-tartomány vizsgálatát. A TRIM–réz(II) rendszerben különböző protonáltsági állapotú törzskomplexei képződését tapasztaltuk. Az 1:1 összetételű oldatokban a CuL komplex a vizsgált pH-tartomány egészében jelen van. Ligandumfelesleg esetében 4-es pH felett CuL₂H és CuL₂ összetételű biszkomplexei is képződnek (24. ábra). A lgK₁ és lgK₂ értékek közötti igen jelentős különbség (lg(K₁/K₂) = 10,06) arra utal, hogy a két ligandum nem azonos módon koordinálódik a fémionhoz.

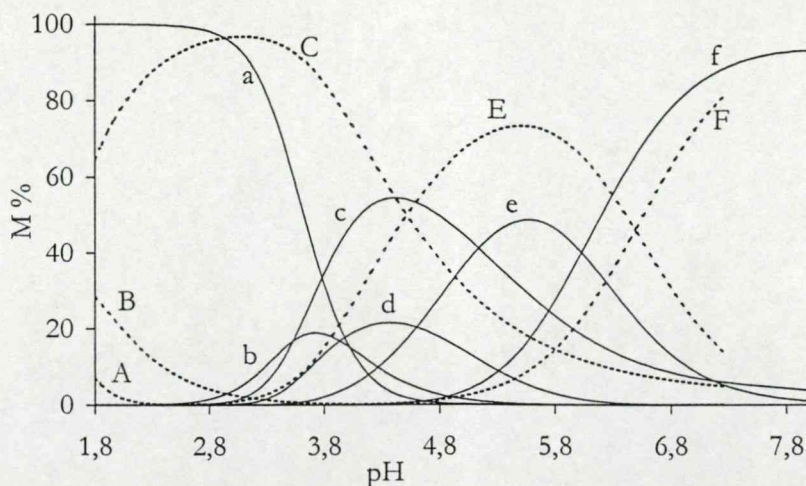
A réz(II)komplexei oldatbeli szerkezetének tanulmányozásához spektrofotometriás és ESR-spektroszkópiás méréseket végeztünk, melyek eredményeit (a meghatározott UV-VIS és ESR-paramétereket) a 2. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: A TRIM és TIM pK -értékei valamint réz(II)- és cink(II)komplexeik képződési állandóinak logaritmusai ($\lg \beta$, zárójelben az utolsó tizedes jegyre vonatkozó hibával). ($I = 0,1 \text{ M NaClO}_4$, $T = 298 \text{ K}$)

Részecske	TRIM		TIM	
	réz(II)	cink(II)	réz(II)	cink(II)
pK_1	3,94(1)		3,58(1)	
pK_2	6,15(1)		5,43(1)	
pK_3	7,26(1)		6,66(1)	
pK_4	–		7,49(1)	
MLH_2	–	–	–	18,05(8)
MLH	16,61(4)	11,98(3)	21,40(2)	14,85(2)
ML	15,17(1)	8,45(1)	19,61(1)	11,18(1)
MLH_{-1}	6,9(1)	0,23(7)	9,57(4)	1,7(1)
ML_2H_2	–	24,05(8)	–	27,7(1)
ML_2H	26,77(3)	19,45(2)	–	21,45(7)
ML_2	20,28(3)	13,42(2)	–	14,66(4)
$\lg K_2$	5,11	4,97	–	3,48
$\lg(K_1/K_2)$	10,06	3,48	–	7,70
$*pK_{ML_2H_2}$	–	4,60	–	6,25
$*pK_{ML_2H}$	6,49	6,03	–	6,79
$*\lg K_1^{\text{kor.}}$	–2,17	–8,89	–3,54	–11,97
Illesztett pontok száma	216	219	299	273
Illesztési paraméter (cm^3)	0,005	0,003	0,004	0,005

$*pK_{ML_2H_n} = \lg \beta_{ML_2H_n} - \lg \beta_{ML_2H_{n-1}}$, $\lg K_1^{\text{kor.}} = \lg \beta_{ML} - \lg \beta_{H_nL}$ $n = 3$ és 4 TRIM-re és TIM-re.

A CuL komplexre meghatározott spektroszkópai értékek három nitrogéndonor koordinációját mutatják, hasonlóan a megfelelő szilárd komplex röntgenkristallográfiás eredményeihez¹⁹. A két biszkomplex spektroszkópai paraméterei csaknem megegyeznek, a CuL részecskét követő kialakulásuk az A csatolási állandók növekedésével, g tenzor csökkenésével (25A-B. ábra) valamint a $d-d$ átmenetre vonatkozó elnyelési maximum helyek "kék eltolódásával" jár. Az ESR-spektrumok szuper-hiperfinom szerkezetének számítógépes illesztése és a 2. táblázat paraméterei 4 nitrogén koordinálódására utalnak a két biszkomplexben a réz(II)ion körüli ekvatoriális pozíciókban. Kérdéses azonban a donorcsoportok axiális koordinációja, ugyanis az ESR-spektroszkópia réz(II)komplexeik esetében nem érzékeny az ilyen típusú koordinációra. A CuL_2H komplex mintegy 2 logaritmus egységgel alacsonyabb pH-n képződik, mint a szabad LH részecske és körülbelül 0,8 egységgel előzi meg a megfelelő cink(II)komplex (ZnL_2H) képződését.



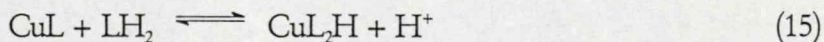
24. ábra: Eloszlásgörbék a TRIM-réz(II) 2:1 (szaggatott vonal, nagybetűk) és TRIM-cink(II) 2:1 (folytonos vonal, kisbetűk) rendszerekben. $[Cu^{2+}]$ és $[Zn^{2+}] = 0,005\text{ M}$, $T = 298\text{ K}$, $I = 0,1\text{ M NaClO}_4$. M (A,a), MLH (B,b), ML (C,c), ML_2H_2 (d), ML_2H (E,e) és ML_2 (F,f).

2. táblázat: A tanulmányozott ligandumok réz(II)komplexeinek spektroszkópiai adatai

Ligan- dum	Komplex	g_0	A_0 (G)	$a_{N,0}$ (G) ^b	g_{\perp}	g_{\parallel}	A_{\perp} (G)	A_{\parallel} (G)	$a_{N,\perp}$ (G) ^b	$\lambda_{\max} / \text{nm}$ [ϵ] / $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$
TRIM	ML	2,133	61,4	13,4	2,067	2,272	15,3	168,5	14,1	626 [42] 305 [117]
	ML_2H	2,125	66,7	13,6	2,056	2,244	14,0	180,0	15,5	602 [64] 295 [207]
	ML_2	2,125	66,7	13,4	2,057	2,247	15,0	180,6	15,0	601 [70] 298 [193]
TIM	ML	2,118	70,3	13,6	2,062	2,234	16,0	179,4	15,5	610 [93] 324 [181]

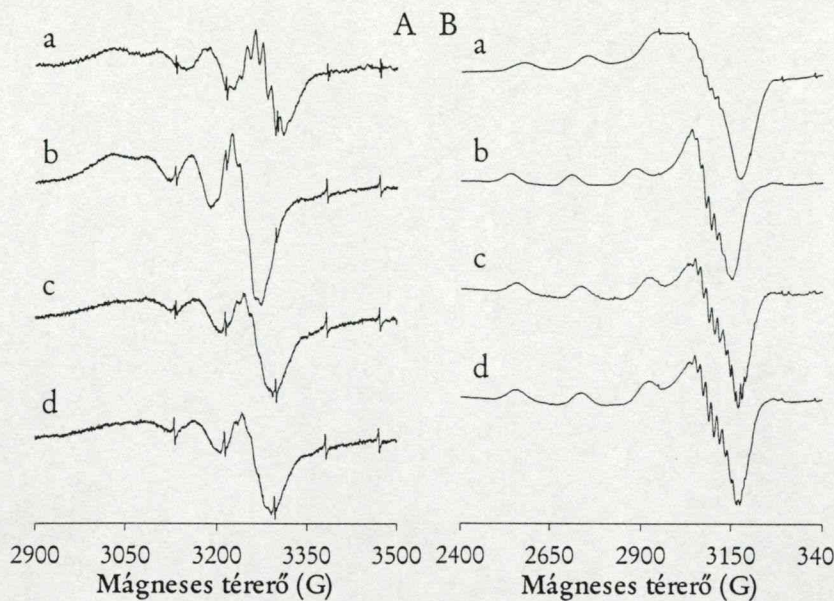
^bA nitrogének száma a legjobb illesztést eredményező szimuláció során: TRIM: 3 (ML) és 4 (ML_2H , ML_2); TIM: 4 (ML)

Ez arra utal, hogy az LH_2 részecske (15) folyamat szerinti fémion-indukálta deprotonálódása a második ligandum kelát típusú koordinációjához vezet; az egyik imidazolgyűrű ekvatoriális, a másik axiális helyzetben kapcsolódik a réz(II)ionhoz.



A $d-d$ átmenetre vonatkozó elnyelési maximum helye 601-602 nm a két biszkomplekre. Ugyanakkor a négy ekvatoriális helyzetű imidazol által koordinált réz(II)komplexeekre vonatkozó elméleti érték 581 nm¹⁴², emellett a bisz(imidazol-2-il)metán biszkomplexe esetében, ahol ugyancsak négy imidazolgyűrű koordinálódik ekvatoriálisan a réz(II)-hez, ez az adat 578 nm. Az ezekhez képesti λ_{\max} "vöröseltolódás" ugyancsak axiális koordinációra enged következtetni¹⁸. A CuL_2H részecske pK-jának nagysága és a két biszkomplex csaknem azonos spektrális paraméterei azt mutatják, hogy CuL_2H deprotonálódása (16) nem jár további fémion-koordinációval.





25. ábra: ESR-spektrumok a TRIM-réz(II) és TIM-réz(II) rendszerekben 298 K-en (A) és 77 K-en (B).
a: $[Cu^{2+}] = [TIM] = 0,005\text{ M}$, $pH = 5,72$, b: $[Cu^{2+}] = [TRIM] = 0,005\text{ M}$, $pH = 5,81$, c: $[Cu^{2+}] = 0,005\text{ M}$, $[TRIM] = 0,015\text{ M}$, $pH = 5,34$, d: $[Cu^{2+}] = 0,005\text{ M}$, $[TRIM] = 0,015\text{ M}$, $pH = 7,5$.

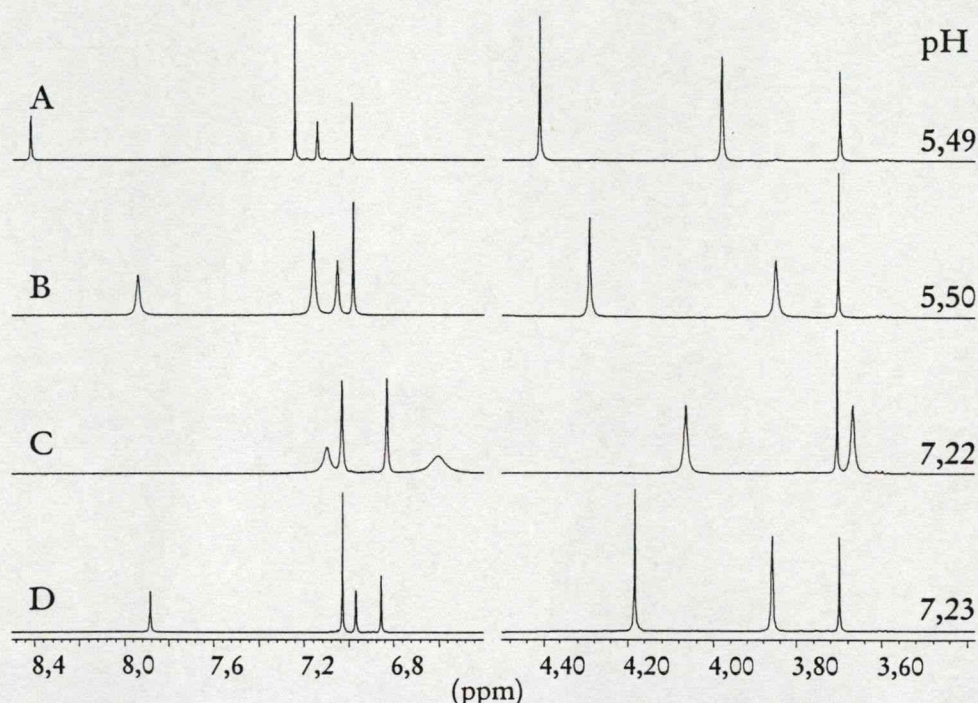
3. táblázat: A szabad ligandumok (TRIM és TIM) 1H NMR kémiai eltolódásai valamint a cink(II)-L 1:1, 2:1 és TRIM-Cys-cink(II) 1:1:1 rendszerekben mért kémiai eltolódás értékek ($T = 298\text{ K}$).
A hidrogének számozása: 23. ábra szerint.

Rendszer	pH	C(2)H	C(4'',5'')H	C(5)H (C(5')H)	C(5')H (C(5)H)	C(7)H ₂	C(6)H ₂
TRIM	5,49	8,42	7,25	7,15	6,99	4,41	3,98
TRIM	7,23	7,89	7,03	6,97	6,86	4,18	3,86
TRIM	9,36	7,61	6,97	6,87	6,77	4,10	3,79
TRIM-Zn(II) 1:1	5,50	7,94	7,16	7,06	6,99	4,29	3,85
TRIM-Zn(II) 1:1	6,92	7,82	7,09	7,03	6,99	4,26	3,82
TRIM-Zn(II) 2:1	5,30	7,88	6,98	7,04	6,92	4,30	3,76
TRIM-Zn(II) 2:1	7,22	7,10	6,60	7,03	6,83	4,06	3,66
TRIM-Cys-Zn(II) 1:1:1	7,45	~7,45	~6,85	7,00	6,92	4,17	3,75
TIM	7,75	7,72	–	6,90	6,80	4,07	3,81
TIM	10,30	7,60	–	6,85	6,75	4,03	3,78
TIM-Zn(II) 1:1	7,75	7,68	–	7,09	6,98	4,25	3,88
TIM-Zn(II) 2:1	7,76	7,44	–	6,81	6,71	4,11	3,57

A TRIM-cink(II) rendszerben képződő komplexek a réz(II)-et tartalmazó részecskékkal megegyező összetételűek, kivéve a kétszeresen protonált ZnL_2H_2 összetételű biszkomplexet. Míg azonban a monokomplexek szerkezete nagy valószínűséggel azonos, addig a biszkomplexek szerkezete eltérő lehet. Cink(II) jelenlétében a második ligandum koordinációja jóval

kedvezményezettebb: $\lg(K_1/K_2)=3,48$. Továbbá a ZnL_2H_2 komplex lépcsőzetes deprotonálódására jellemző pK-k szignifikánsan kisebbek, mint a szabad ligandum megfelelő értékei (1. táblázat). Emellett az ML_2H részecskére meghatározott pK 0,5 logaritmus egységgel kisebb cink(II) esetében, mint az azonos réz(II)komplexnél. Mindez együtt azt jelzi, hogy mind a két ligandum háromfogúként koordinálódik a cink(II)ionhoz az oktaédes ZnL_2 komplexben.

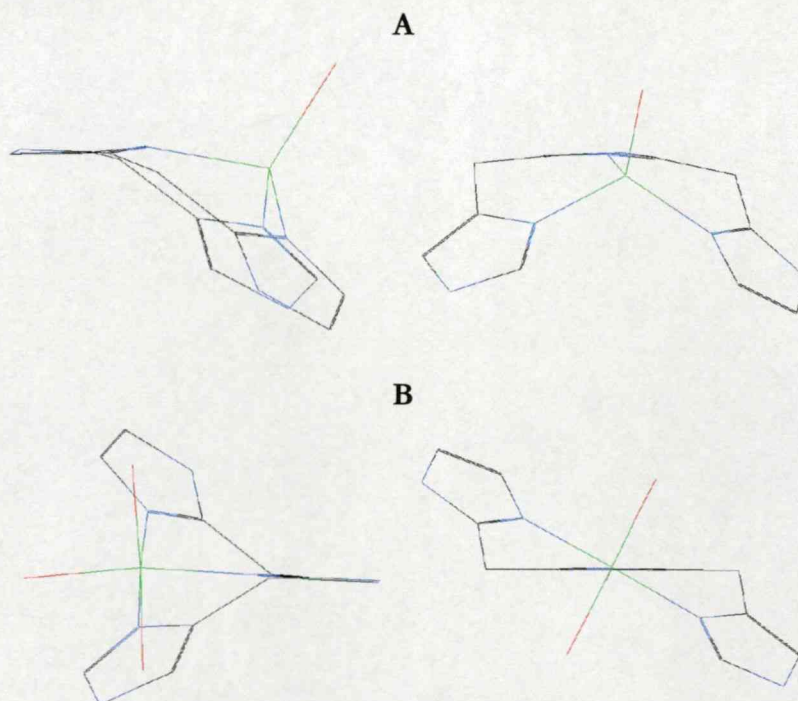
A cink(II)komplexek szerkezetének vizsgálatához 1H NMR-spektroszkópiát alkalmaztunk. A különböző rendszerekben és pH-kon mért kémiai eltolódás értékeket a 3. táblázat mutatja be. pH 4,5 alatt az ekvimoláris oldatban mért 1H NMR kémiai eltolódások hasonlóak a szabad ligandum azonos pH-n mért értékeihez, de a jelek rendkívül szélesek. Ez valószínűleg a protonált szabad ligandum és a képződő komplexek közötti viszonylag lassú ligandumcserének köszönhető.



26. ábra: A TRIM 1H NMR-spektrumának részletei cink(II) távol- (A,D) és jelenlétében (B,C) 1:1 (B) és 2:1 (C) TRIM : cink(II) arányban. (Az intenzitások torzítottak.)

A ZnL részecske 100 %-os képződésének megfelelő pH-n ($pH \sim 5,5$) a jelek élesek, és a szabad ligandum azonos pH-n mért jeleihez képest a nagyobb terek felé tolódtak el, amely az imidazolgyűrűk fémion-indukálta deprotonálódásának következménye (3. táblázat, 26. ábra). A pH növelése ($pH \sim 6,95$) a jelek további enyhe, a nagyobb terek irányába történő eltolódásával jár, ugyanakkor ismételt kiszélesedéssel, ami valószínűleg a $ZnLH_1$ komplexszel történő cserének a hatása. Kétszeres ligandumfelesleg jelenlétében $pH \sim 5,3$ -ig a 1H NMR-spektrumok hasonlóak az 1:1 rendszerben mértékhez. Az oktaédes ZnL_2 részecske kialakulása azonban alapvető változásokat eredményez a spektrumokon. A ligandum minden jele, de különösen a C(2)H és C(4'',5'')H hidrogének csúcsai jelentős mértékben eltolódnak mind a ZnL komplexhez, mind a szabad ligandum megfelelő jeleihez képest (3. táblázat, 26. ábra). Emellett az egyes imidazol protonokon szelektív jelszélesedés figyelhető meg, mely melegítés hatására csökken. Ilyen jelentős kémiai eltolódásbeli különbség a mono- és biszkomplexek között (0,7 ppm pl. a C(2)H-re)

nagyon meglepő, hiszen a ligandumok mind a ZnL , mind a ZnL_2 komplexekben háromfogúként koordinálódnak a fémionhoz.

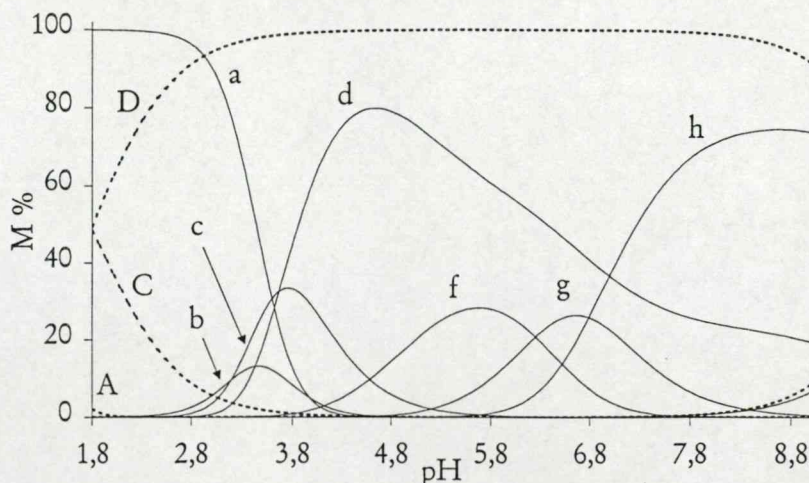


27. ábra: A háromfogú módon koordinálódó TRIM lehetséges konformációi a középső imidazol síkjának irányából tetraédres (A) és oktaédres (B) geometriában

A nagy különbség magyarázata valószínűleg az, hogy a TRIM ligandum eltérő konformációban kapcsolódik a fémionhoz a mono- és biszkomplexben. A TRIM háromfogú koordinációja a cink(II)-hez kétfajta konformációban képzelhető el, mely a fémion környezetének geometriáját is megváltoztatja (27. ábra). Az első lehetséges konformációban a ligandum két szélső gyűrűje a középső imidazolgyűrű által meghatározott sík azonos oldalán (alatt vagy fölött) helyezkedik el, mely a cink(II)ion számára tetraédres geometriát determinál. A második lehetséges konformációban a két szélső imidazolgyűrű a középső által meghatározott sík két ellentétes oldalán (alatt és fölött) helyezkedik el, mely oktaédres geometriát kényszerít ki a cink(II)ion körül. Ismeretes, hogy a cink(II)komplexek geometriája viszonylag könnyen változhat tetraédres és oktaédres között¹⁰⁶, s ez utóbbi általában kedvezményezett több (2-4) imidazolnitrogén koordinálódása esetén. A bemutatott NMR eredményeink alapján azt gondoljuk, hogy a ZnL monokomplex tetraédres geometriájú, míg a ZnL_2 biszkomplexben a központi cink(II)ion környezete oktaédres.

TIM-komplexek: A TIM-réz(II) és TIM-cink(II) rendszerekben is pH-metriás titrálásokat végeztünk a képződő komplexek stabilitási állandóinak meghatározására (1. táblázat). A méréseket 1,8–8,0 illetve 1,8–9,0 pH-tartományokban végeztük az alkalmazott ligandumfeleslegtől függően. E tartományokon kívül a TIM-et tartalmazó rendszerekben is csapadékosodást észleltünk. Amint az az eloszlásgörbéken látható, réz(II)-zel rendkívül stabilis CuL komplex képződik, amely a teljes pH-tartományban a domináns részecske (28. ábra). A protonált törzskomplex ($CuLH$) csak savas körülmények között létezik, s a negyedik imidazolgyűrű fémion-indukálta deprotonálódása ~1,8-as pK-val vezet a négy nitrogéndonor által

koordinált CuL komplex képződéséhez. A CuLH_{-1} részecske kialakulásával párhuzamosan, 9-es pH környékén kezdődik az oldatokban a csapadék leválása.



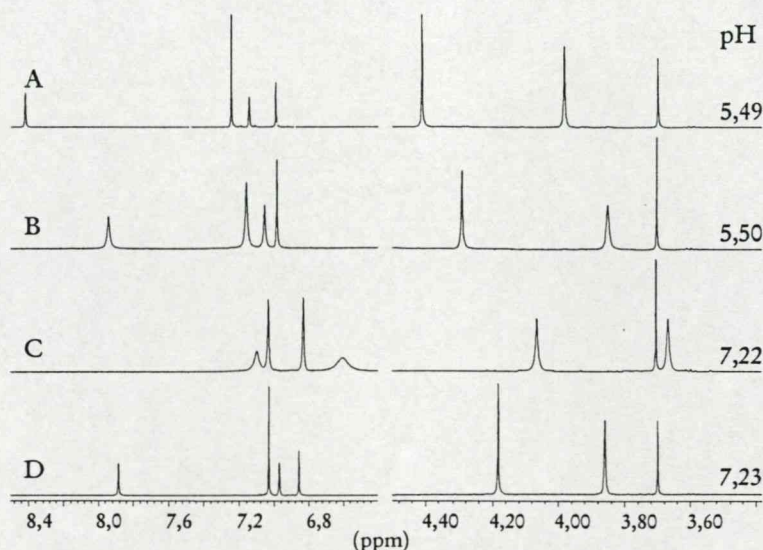
28. ábra: Eloszlásgörbék a TIM-réz(II) 2:1 (szaggatott vonal, nagybetűk) és TIM-cink(II) 2:1 (folytonos vonal, kisbetűk) rendszerekben. ($[\text{Cu}^{2+}]$ és $[\text{Zn}^{2+}] = 0,005 \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $I = 0,1 \text{ M NaClO}_4$). M (A,a), MLH_2 (b), MLH (C,c), ML (D,d), MLH_{-1} (E), ML_2H_2 (f), ML_2H (g) és ML_2 (h).

A TIM-réz(II) rendszerben semmilyen fém-ligandum aránynál nem tapasztaltuk biszkomplexek képződését. A CuL komplex spektrális paraméterei (2. táblázat) valamelyest eltérnek attól, amit négy ekvatoriális helyzetű imidazolnitrogén koordinálódása esetén várnánk. Így például a bisz(imidazol-2-il)metán biszkomplexére vonatkozó megfelelő paraméterekhez képest ($\lambda_{\text{max}}^{\text{d-d}} = 578 \text{ nm}$, $g_{\parallel} = 2,237$ és $A_{\parallel} = 199 \text{ G}$)¹⁸ $\lambda_{\text{max}}^{\text{d-d}}$ értéke nagyobb, míg a párhuzamos tartományra vonatkozó hiperfinom csatolási állandó (ESR) kisebb. Ennek ellenére, mind a pH-metriás eredmények, mind az izotróp ESR-spektrum jól feloldott ^{14}N szuperhiperfinom szerkezetének (25A. ábra) számítógépes analízise négy nitrogén ekvatoriális helyzetű koordinálódását mutatja. A $[\text{Cu}(\text{ClO}_4)(\text{TIM})]\text{ClO}_4$ szilárd komplex kristályszerkezete a réz(II) tetragonális környezetének számottevő torzulását mutatta, a ligandumváz viszonylagos merevségének következményeként¹⁹. A Cu(TIM) komplex oldatbeli szerkezete valószínűleg szintén torzult, ami megmagyarázza a spektrális paraméterekben mutatkozó eltéréseket. Ez a torzulás azonban nem csökkenti a komplex stabilitását. A fentebb már említett, csaknem tökéletes tetragonális szimmetriájú bisz[bisz(imidazol-2-il)metán]réz(II) komplex^{18,19} bázicitással korrigált stabilitási állandója jelentősen kisebb ($\lg\beta(\text{ML}_2) - 2\lg\beta(\text{LH}_2) = -6,28$), mint a Cu(TIM) komplexre számolható érték ($-3,54$).

A TRIM és TIM réz(II)komplexeire számolt nagy ^{14}N szuperhiperfinom csatolási állandók (13-15,5 G, 2. táblázat) a párosítatlan elektron jelentős mértékű delokalizációjára utalnak az imidazolgyűrűkön.

Ellentétben a réz(II)tartalmú rendszerrel, a TIM-et és cink(II)-et tartalmazó oldatokban különböző protonáltsági állapotú mono- és biszkomplexek képződését tapasztaltuk (28. ábra). Ekvimoláris összetétel mellett pH 5 felett a négy imidazolnitrogén koordinálódásával kialakuló $\text{Zn}(\text{TIM})$ összetételű komplex van egyedül jelen. Kétszeres ligandumfelesleg esetén a ZnL_2 biszkomplex az uralkodó részecske pH 7 felett (28. ábra). A TIM ligandum négyfogú sajátága miatt legalább két fajta koordinációs izomer formájában létezhet ZnL_2 az oldatban. Vagy mindkét

ligandum három-három nitrogéndonorjával koordinálódik a fémionhoz, vagy az egyik négyfogúként, mint a ZnL monokomplexben, míg a második az ötödik és hatodik koordinációs helyekhez kétfogúként kapcsolódik. Bármelyik izomerről van is szó, $\lg K_1$ és $\lg K_2$ értékek eltérő folyamatokra utalnak. ($\lg K_1$ azt a folyamatot jellemzi, amelynek során a ligandum négy nitrogénjével kapcsolódik a fémionhoz, ugyanakkor $\lg K_2$ a kettő vagy három nitrogén koordinálódásával járó folyamatra vonatkozik.)



29. ábra: ^1H NMR-spektrumok részletei a TIM–cink(II) 1:1 (A), 2:1 (B) és 1:0 (C) rendszerekben. $\text{pH} = 7,75$ -nél. A 3,70 ppm-nél jelentkező csúcs a dioxán jele. (Az intenzitások torzítottak.)

Ennek megfelelően a lépcsőzetes stabilitási állandókban jelentős eltérés mutatkozik [$\lg(K_1/K_2) = 7,70$], amelyhez természetesen a nem-koordinálódó gyűrűk szterikus gátló hatása is hozzájárulhat a biszkomplexben.

A TIM–cink(II) rendszer ^1H NMR-vizsgálatai hasonló eredményre vezettek, mint a TRIM–cink(II) rendszer esetében. 4-es pH alatt a széles jeleket detektáltunk, majd a ZnL komplex kialakulásakor ezek kiélesedtek. A ZnL komplex jelei rendre az alacsonyabb terek felé vannak eltolódva a szabad ligandum azonos pH-n mért, illetve 10,3-as pH-hoz tartozó (nemprotonált forma) jeleihez képest (29. ábra, 3. táblázat). Ugyanakkor a biszkomplex kémiai eltolódás értékei, a $\text{C}(7)\text{H}_2$ protonokat kivéve, rendre kisebbek a szabad ligandumra vonatkozó értékeknél (magasabb terek felé vannak eltolódva), amint az a 29. ábrán látható. Eredményeink alapján meglehetősen nehéz a két lehetséges izomer forma között dönteni, azonban a biszkomplex $\text{Zn}(\text{TRIM})_2$ komplexhez hasonló NMR-viselkedése a két ligandum háromfogú koordinációját sejteti.

Terner rendszerek ciszteinnel: Imidazol és tiolát donorcsoportok cink(II)koordinációjának komoly biokémiai jelentősége van DNS-hez kötődő fehérjék speciális cink(II)tartalmú helyein (cink-ujj proteinek)²⁸, a metallotioneinekben²⁸, néhány enzimben²⁸ vagy pl. az ún. "ferric uptake" proteinekben, ahol a cink(II)-hez három hisztidin imidazol és két cisztein tiolát koordinálódik¹⁴³. Ezért érdekesnek tűnt megvizsgálni a fentebb bemutatott cink(II)tartalmú rendszerek viselkedését *L*-cisztein, mint második ligandum jelenlétében is. Ehhez azonban természetesen a cisztein protonálódási állandóinak, valamint a *L*-cisztein–cink(II) biner rendszerben képződő komplexek stabilitási állandóinak ismerete is szükséges. Ezeket az állandókat, bár irodalmi adatok is

rendelkezésre állnak, a teljesen azonos körülmények biztosítása érdekében meghatároztuk. A meghatározott részecskemátrix-modell és a stabilitási állandók jó egyezést mutatnak az említett irodalmi adatokkal^{144,145,146}. A cink(II)-*L*-cisztein biner, valamint a cink(II)-TRIM-*L*-cisztein és cink(II)-TIM-*L*-cisztein terner rendszerekre vonatkozó állandókat a 4. táblázat tartalmazza. (A terner rendszerekben szokásos jelöléseket alkalmazva a továbbiakban TRIM-et vagy TIM-et A-val, míg az *L*-ciszteint B-vel jelölöm.)

Az ZnA összetételű részecskék mellett számottevő mennyiségben különböző protonáltsági állapotú vegyes ligandumú komplexek (ZnABH₂, ZnABH, ZnAB) képződését is tapasztaltuk a TRIM illetve TIM tartalmú rendszerekben egyaránt. Az alábbi folyamatra számolható stabilitási állandó a cisztein karboxilátcsoporton keresztüli egyfogú koordinációját mutatja a Zn(TRIM) komplexhez.



$$\lg \beta_{\text{ZnABH}_2} - \lg \beta_{\text{ZnA}} - \lg \beta_{\text{BH}_2} = -1,89 \quad (19)$$

4. táblázat: A cink(II)-Cys biner és a cink(II)-TRIM-Cys és cink(II)-TIM-Cys terner rendszerekben képződő komplexek képződési állandóinak logaritmusai ($\lg \beta$, zárójelben az utolsó tizedes jegyre vonatkozó hibával), valamint néhány számmaztatott állandó.

($I = 0,1 \text{ M NaClO}_4$, $T = 298 \text{ K}$) (TRIM, TIM = A, *L*-cisztein = B).

Komplex	Zn(II)-Cys*	Komplex	Zn(II)-TRIM-Cys	Zn(II)-TIM-Cys
pK ₁₋₂₋₃	1,90(1); 8,16(1); 10,29(1)	ZnABH ₂	28,79(7)	–
ZnBH	14,3(1)	ZnABH	23,06(3)	24,22(2)
ZnB	8,72(9)	ZnAB	15,66(4)	15,98(3)
ZnB ₂ H ₂	30,22(6)	pK _{ZnABH₂}	5,73	–
ZnB ₂ H	23,8(1)	pK _{ZnABH}	7,40	8,24
ZnB ₂	18,06(1)	# $\Delta \lg K_{\text{ZnAB}}$	–1,51	–3,92
Zn ₂ B ₃	30,28(8)	# $\Delta \lg \beta_{\text{ZnAB}}$	–0,38	–0,68
Zn ₃ B ₄ H	49,31(4)	Illesztett pontok száma	293	416
Zn ₃ B ₄	42,83(8)	Illesztési paraméter (cm ³)	0,006	0,004

*A cink(II)-Cys rendszerben az illesztett pontok száma: 321, az illesztési paraméter: 0,002 cm^{–3}.

$\Delta \lg K_{\text{ZnAB}} = \lg K_{\text{ZnA+B}} - \lg K_{\text{Zn+B}} = \lg K_{\text{ZnB+A}} - \lg K_{\text{Zn+A}} = \lg \beta_{\text{ZnAB}} - \lg \beta_{\text{ZnA}} - \lg \beta_{\text{ZnB}}$;
 $\Delta \lg \beta_{\text{ZnAB}} = \lg \beta_{\text{ZnAB}} - 0,5 \cdot (\lg \beta_{\text{ZnA}_2} + \lg \beta_{\text{ZnB}_2} + \lg 4)$

A ZnABH₂ részecske további két lépcsőzetes deprotonálódásának pK-i (pK = 5,73 és 7,40) jelentősen kisebbek, mint a szabad cisztein második és harmadik pK-ja. Ez a tiolát- és az aminocsoport egymást követő koordinációjára utal. Ennek következményeként a (20) folyamatra vonatkozó $\lg K_{\text{ZnA+B}}$ állandó értéke (= 7,21) a ZnA komplex jelentős affinitását mutatja a

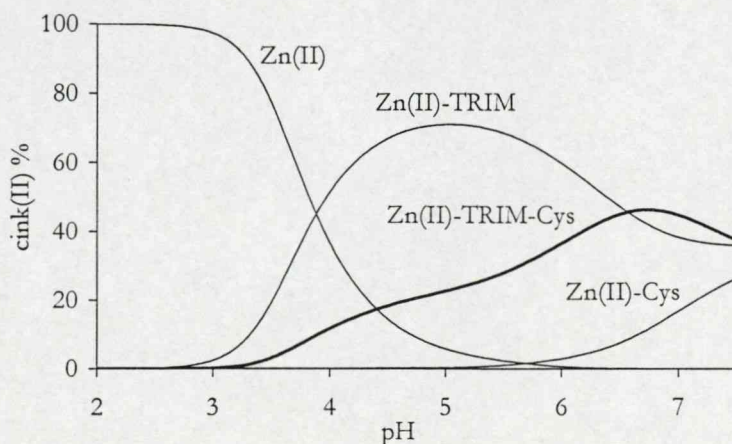
ciszteinhez, annak ellenére, hogy a cisztein biner (ZnB) komplexének stabilitása valamivel nagyobb ($\lg K_{\text{Zn+B}} = 8,72$, 4. táblázat).



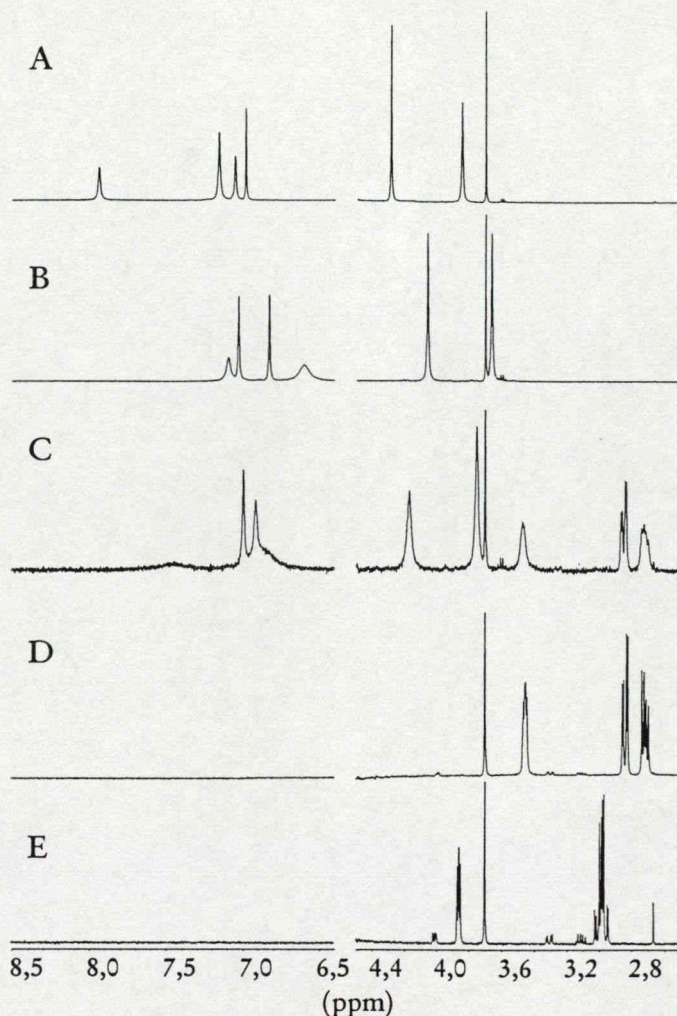
$$\lg \beta_{\text{ZnAB}} - \lg \beta_{\text{ZnA}} = \lg K_{\text{ZnA+B}} = 7,21 \quad (21)$$

Amint azt a 30. ábra jól tükrözi, pH 7 körül a fémionok ~50 százaléka terner komplexekben van. A terner rendszer ^1H NMR-vizsgálatai ugyancsak mutatják a vegyes ligandumú komplexképződést. Mind a TRIM, mind a cisztein jelei eltérnek a biner rendszerekben külön-külön mértől. pH 7 környékén az imidazol protonokon szelektív jelkiszélesedés figyelhető meg (31. ábra). A C(2)H proton kémiai eltolódása ($\delta = 7,45$) a $\text{Zn}(\text{TRIM})$ és a $\text{Zn}(\text{TRIM})_2$ biner komplexekre meghatározott értékek közé esik. A cisztein jelei a terner komplexben jelentősen a magasabb terek felé tolódtak el a szabad ligandumhoz képest, ugyanakkor csaknem azonosak a cink(II)-cisztein 1:2 rendszerben azonos pH-n mért értékekkel, ahol mind a tiolát-, mind pedig az aminocsoport koordinálódik a fémionhoz. Míg azonban a csúcsok a cink(II)-cisztein rendszerben élesebbek, addig a terner rendszer esetében a királis szénhez kapcsolódó hidrogén (CH) és a mágnésesen nemekvivalens CH_2 hidrogének egyikének jelei jelentős vonalkiszélesedést szenvednek (31. ábra). A pH-metriás eredményekkel összhangban a ^1H NMR-adatok is erős, legalább kétfogú $\{\text{N}, \text{S}^-\}$ cisztein koordinációt mutatnak a ZnAB összetételű komplexben.

A cink(II)-TIM-Cys terner rendszerben a vegyes ligandumú komplexképződés kevésbé kedvezményezett, amint azt a (20) folyamat szerinti $\lg K_{\text{ZnA+B}}$ állandó értéke is mutatja ($= 4,80$). Mindazonáltal a ZnABH komplex deprotonálódására vonatkozó pK (8,24, 4. táblázat) jelentősen kisebb, mint a szabad cisztein harmadik pK-ja, ami a TIM négy imidazolgyűrűjének koordinációja ellenére is a cisztein kelát típusú koordinációját jelzi a ZnAB komplexben. Legjobb tudomásunk szerint ezidáig nincs irodalmi adat a cink(II)-L-cisztein rendszer poliimidazol ligandumokkal képzett vegyes ligandumú komplexeire. Ezért a bemutatott terner komplexek jelentős stabilitási értékei és a szerkezetvizsgálati eredmények igen értékesek, különösen a biner komplexek (cink(II)-TRIM/TIM és cink(II)-Cys) nagy stabilitásának tükrében. Az eredmények, főként a triimidazol származék TRIM esetében, az $\{\text{N}, \text{S}^-\}$ típusú cink(II)-koordináció kiemelt szerepére világítanak rá.



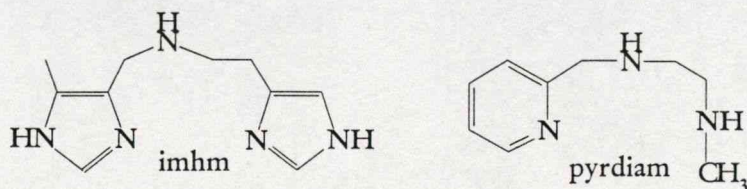
30. ábra: A terner és biner komplexek arányát bemutató ún. predominancia görbék a TRIM-Cys-cink(II) 1:1:1 rendszerben. ($[\text{cink(II)}] = 0,005 \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $I = 0,1 \text{ M NaClO}_4$).



31. ábra: ^1H NMR-spektrumok részletei a TRIM-Cys-cink(II) 1:0:1 (A), 2:0:1 (B), 1:1:1 (C), 0:2:1 (D) és 0:1:0 (E) rendszerekben. pH = 5,50 (A), 7,22 (B), 7,45 (C), 7,48 (D) és 7,52 (E).

5.1.2. Imidazol- és piridinyűrű mellett aminocsoportot tartalmazó ligandumok és átmenetifém-komplexeik egyensúlyi és oldatszerkezeti vizsgálata

Az imhm és pyrdiam ligandumok (32. ábra) az előző fejezetben tárgyalt TRIM-hez hasonlóan háromfogú ligandumok, melyekben csak nitrogéntartalmú donorcsoportok találhatók. Az imidazolgyűrű(ke)t helyettesítő piridinyűrű illetve aminocsoportok azonban a koordinációs kémiai sajátságokban kisebb-nagyobb változásokat eredményezhetnek, köszönhetően ezen csoportok eltérő bázicitásának, és viszontkoordinációs sajátságainak. Az aminocsoportok jelenléte az aromás gyűrűk helyett (pyrdiam) nagyobb flexibilitást engedélyez a molekulának a fémion-koordináció során (összehasonlítva pl. a TRIM ligandummal).



32. ábra: Az imhm és pyrdiam sematikus szerkezete

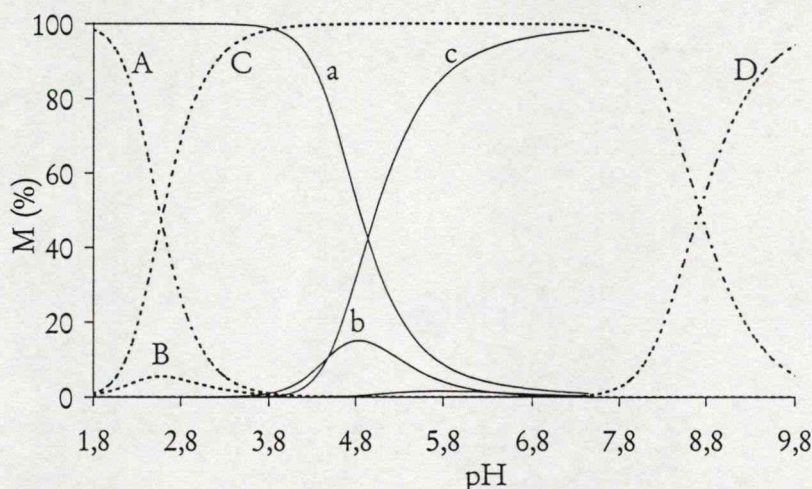
Protonálódási állandók: A ligandumok protonálódási folyamatait pH 1,8–11 tartományban tanulmányoztuk pH-metriás titrálások segítségével. A meghatározott pK-értékeket az 5. táblázat tartalmazza. Az imhm ligandum pH=2-nél teljesen protonált formában van jelen az oldatban, és három lépcsőben deprotonálódik. Az első két, kissé átfedő folyamat nagy valószínűséggel a két imidazolgyűrűhöz, a harmadik deprotonálódás a szekunder aminocsoporthoz rendelhető. A pyrdiam három teljesen elkülönülő lépcsővel deprotonálódik. Az első pK nagyon kicsi, emiatt bizonytalansága is igen nagy, ugyanis a titrálások kezdetén a ligandumnak csak 15-20 százaléka van háromszor protonált formában az oldatban. A piridinggyűrű erős elektronszívó sajátosságának figyelembevételével az első pK a gyűrűnitrogén deprotonálódásához tartozik. Ez az elektronszívó hatás mutatkozik meg a szomszédos aminocsoport szokatlanul alacsony pK-értékében is (pK=5,61). A harmadik disszociációs folyamat valószínűleg a láncvégi metilált aminocsoporthoz rendelhető. A disszociációs állandók értékét természetesen a potenciálisan kialakuló hidrogénhidak is befolyásolják.

5. táblázat: Az imhm és pyrdiam pK-értékei valamint réz(II)- és cink(II)komplexeik képződési állandóinak logaritmusai ($\lg\beta$, zárójelben az utolsó tizedes jegyre vonatkozó hibával). ($I = 0,1 \text{ M NaClO}_4$, $T = 298 \text{ K}$)

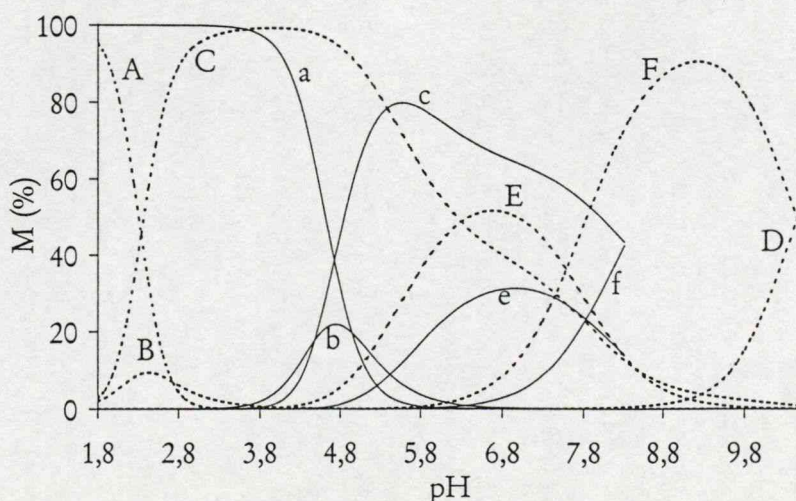
Komplexe	imhm		pyrdiam	
	réz(II)	cink(II)	réz(II)	cink(II)
pK ₁	4,70(1) ^a ;	4,76(1)	1,2(5)	
pK ₂	6,10(1) ^a ;	6,14(1)	5,61(1)	
pK ₃	9,09(1) ^a ;	9,10(1)	9,67(1)	
MLH	16,43(6) ^a ;	17,10(2)	16,38(5)	12,62(1)
ML	14,79(1) ^a ;	14,92(1)	14,72(1)	8,26(1)
MLH ₁	–	–	5,85(1)	–0,96(8)
ML ₂ H	26,23(7) ^a ;	26,60(5)	25,6(2)	19,4(1)
ML ₂	18,65(3) ^a ;	19,08(2)	19,41(1)	13,49(1)
M ₂ L ₂ H ₂	14,43(2) ^a ;	–	–	–
^b pK _{MLH}	1,64 ^a	2,18	1,66	4,36
^b lg K ₁ ^{kor}	–5,10 ^a	–5,08	–1,76	–8,22
^b pK _{ML₂H}	7,58 ^a	7,42	6,2	5,91
lg K ₂	3,86 ^a	4,16	4,69	5,23
lg(K ₁ / K ₂)	10,93 ^a	10,76	10,03	3,03
^b lg K ₂ ^{kor}	–16,03 ^a	–15,84	–11,79	–11,25
Illesztett pontok száma	0,008 ^a	0,006	0,005	0,003
Illesztési paraméter (cm ³)	679 ^a	419	630	365

^a $I = 0,1 \text{ M NaCl}$; ^b $\text{pK}_{\text{ML}_m\text{H}} = \lg\beta_{\text{ML}_m\text{H}} - \lg\beta_{\text{ML}_m}$; $\lg K_m^{\text{kor}} = \lg K_{\text{ML}_m} - \lg\beta_{\text{H}_3\text{L}}$

Az imhm réz(II)- és cink(II)komplexei: Az imhm ligandum tanulmányozása során kétfajta háttélelektrolitot alkalmazva végeztünk pH-metriás titrálásokat. Ennek oka az volt, hogy a csoportunk által rendszerint alkalmazott NaClO_4 -ot NaCl -ra cserélve az imhm-réz(II) rendszerben jóval nagyobb pH-n tapasztaltuk csak csapadék leválását. Ugyanakkor a háttélelektrolit minősége nem befolyásolta a cink(II)komplexe oldékonyságát. NaClO_4 jelenlétében pH 1,8–7,4 (1:1 fém-ligandum arány) és 1,8–8,5 (ligandumfelesleg) tartományban végeztünk pH-metriás titrálásokat. Ez a tartomány az imhm-réz(II) rendszerben NaCl jelenlétében 9,7-es (1:1 arány) illetve 10,5-ös (ligandumfelesleg) pH-értékekig kiterjeszthető volt. Mindez azt eredményezte, hogy a ligandumhoz képest extra deprotonálódással képződő komplexre ($\text{Cu}_2\text{L}_2(\text{OH})_2$) vonatkozó stabilitási állandót csak NaCl háttélelektrolit esetében tudtunk megadni, így spektroszkópiás méréseinket is ilyen körülmények mellett végeztük. Az említett részecske kialakulásáig nincs különbség a részecskemodellek között, így az eredmények tárgyalásánál a NaCl -tartalmú rendszerre koncentrálok.



33. ábra: Eloszlásgörbék az imhm-réz(II) 1:1 (szaggatott vonal, nagybetűk) és imhm-cink(II) 1:1 (folytonos vonal, kisbetűk) rendszerekben. ($[\text{Cu}^{2+}]$, $[\text{Zn}^{2+}] = 0,005 \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $I = 0,1 \text{ M NaCl (Cu}^{2+})$ és $\text{NaClO}_4 (\text{Zn}^{2+})$). M (A,a), MLH (B,b), ML (C,c), $\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_2$ (D).



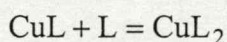
34. ábra: Eloszlásgörbék az imhm-réz(II) 3:1 (szaggatott vonal, nagybetűk) és imhm-cink(II) 2:1 (folytonos vonal, kisbetűk) rendszerekben. ($[\text{Cu}^{2+}]$, $[\text{Zn}^{2+}] = 0,005 \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $I = 0,1 \text{ M NaCl (Cu}^{2+})$ és $\text{NaClO}_4 (\text{Zn}^{2+})$). M (A,a), MLH (B,b), ML (C,c), $\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_2$ (D), ML_2H (E,e), ML_2 (F,f).

A meghatározott bruttó stabilitási állandókat és néhány számított értéket az 5. táblázatban tüntettem fel. Amint azt a 33. ábra jól mutatja, az egyszerűen protonált MLH összetételű részecskék kis mennyiségben vannak jelen savas körülmények között. Az őket követő ML monokomplexek széles pH-tartományban uralkodóak az 1:1 fém-ligandum arányú oldatokban. A CuL komplex kialakulása ~2 logaritmus egységgel kisebb pH-n kezdődik, mint a megfelelő ZnL komplexé, mely természetesen eltérő stabilitásuk következménye (5. táblázat). pH 8 felett réz(II) jelenlétében további deprotonálódás figyelhető meg, melynek eredménye az $M_2L_2H_2$ bruttó összetétellel leírható kétmagvú részecske. Kétszeres-háromszoros ligandumfelesleg mellett pH 5 felett különbözőképpen protonált biszkomplexek is képződnek (34. ábra). Ahhoz, hogy a képződő réz(II)komplexek szerkezetéről információkat kapjunk kombinált pH-metriás/spektrofotometriás titrálásokat valamint ESR-spektroszkópiás méréseket végeztünk. A meghatározott egyedi paramétereket a 6. táblázat foglalja össze. A CuL komplexre vonatkozó értékek ($\lambda_{\max} = 634$ nm, $g_0 = 2,124$, $A_0 = 55,4$ G) három nitrogéndonor koordinációjára utalnak a réz(II)ion ekvatoriális síkjában. A CuL részecske deprotonálódásával képződő komplex ESR-csendes (35A. ábra) és kialakulása a $d-d$ elnyelési sáv jelentős "kék" eltolódásával jár (36. ábra, 6. táblázat). Habár a fémionhoz koordinált vízmolekulák vagy a fémion-indukálta pirrolos(N1)-nitrogén deprotonálódása³¹ egyaránt elképzelhető, rendszerünkben előbbi lejátsszódása valószínűbb, így a kétmagvú részecske nagy valószínűséggel egy dihidroxohidas ($Cu_2L_2(OH)_2$) összetételű komplex. A ligandumfelesleg esetén képződő CuL_2H részecske spektrális paraméterei megfelelnek négy nitrogéndonor ekvatoriális koordinációjának torzult oktaéderes környezetben, s ennek megfelelően lényegesen különböznek a CuL monokomplexre vonatkozó értékektől ($\lambda_{\max} = 572$ nm, $g_0 = 2,108$, $A_0 = 72,8$ G). A CuL_2 komplex képződése további spektrális változásokkal jár. A $d-d$ átmenetre vonatkozó elnyelési maximum hely 20 nm-rel nagyobb hullámhossznál van, mint a protonált biszkomplex esetében (36. ábra), emellett a g értékek valamelyest nagyobbak, míg A (A_0 és $A_{//}$) értékek kisebbek CuL_2H -hoz képest. A CuL_2 komplex kialakulásához vezető folyamat pK-ja jóval kisebb, mint a szabad ligandum harmadik pK értéke (5. táblázat), ami fémion-indukálta deprotonálódásra utal. Mindez együtt imidazolgyűrűk axiális koordinációját jelzi a CuL_2 komplexben. A ligandum aszimmetrikus jellege miatt (32. ábra) {5,6} csatolt kelátgyűrűk révén axiálisan nyújtottabb geometriájú, részben 5N vagy 6N koordinációjú komplexek kialakulása lehetséges. Bár a $\lg(K_1/K_2)$ igen nagy értéke (= 10,93, 5. táblázat) az első és második ligandum eltérő koordinációs módját sugallhatja, ilyen jelentős különbséget a (22) folyamatot kísérő komplexen belüli szerkezeti átrendeződés is eredményezhet, nevezetesen az első koordinálódó ligandum hisztamin-jellegű imidazolgyűrűjének ekvatoriálisból axiális pozícióba jutása.

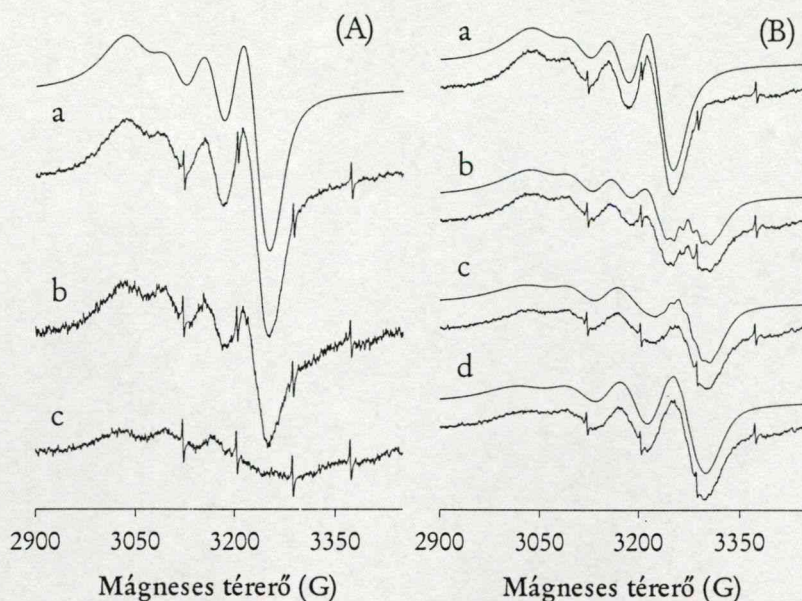
6. táblázat: Az imhm-réz(II) rendszerben képződő komplexek spektroszkópiai adatai

Komplex	g_0	A_0 (G)	$a_{N,O}$ (G) ^(b)	g_{\perp}	$g_{//}$	$A_{//}$ (G)	λ_{\max} (nm)	$[\varepsilon]$ (M ⁻¹ cm ⁻¹)
ML	2,124	55,4	10,5 (3)	2,060	2,237	167,7	634	59
³ M ₂ L ₂ H ₂	–	–	–	–	–	–	566	184
ML ₂ H	2,108	72,8	13,2 (4)	2,053	2,224	187,1	572	107
ML ₂	2,112	72,3	12,6 (4)	2,057	2,233	180,5	592	85

^aESR-csendes komplex. ^bNitrogének száma a legjobb illesztést eredményező szimuláció során.



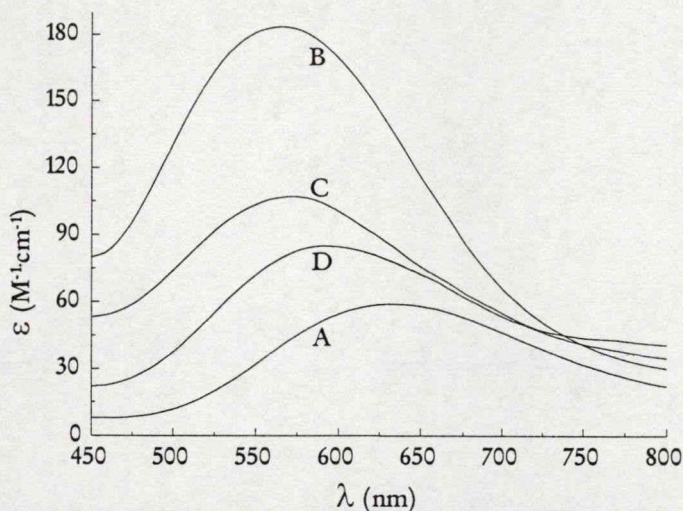
(22)



35. ábra: Mért és számított ESR-spektrumok az imhm-réz(II) 1:1 (A) és 3:1 (B) rendszerekben 298 K-en.

A: $[L] = [M] = 0,005 \text{ M}$, $\text{pH} = 6,63$ (a), $8,68$ (b) és $9,47$ (c);

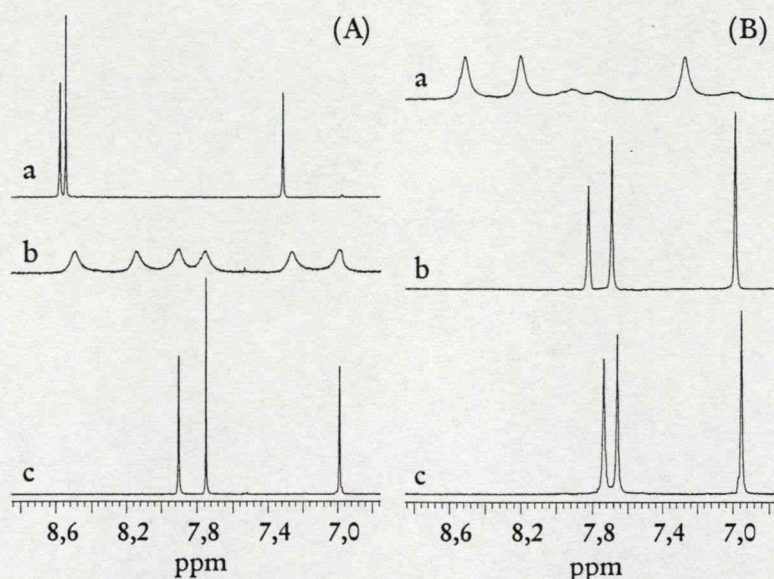
B: $[L] = 3 \times [M] = 0,015 \text{ M}$, $\text{pH} = 4,11$ (a), $5,89$ (b), $7,64$ (c) és $9,21$ (d).



36. ábra: Az imhm-réz(II) rendszerben jelentősebb mennyiségben képződő komplexek egyedi elektrongerjesztési spektrumai. CuL (A), $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-2}$ (B), CuL_2H (C) és CuL_2 (D).

Az imhm-cink(II) rendszerben képződő komplexek jellemzéséhez ^1H NMR-spektrumokat vettünk fel. A ligandum protonjainak kémiai eltolódásait a 3. táblázat tartalmazza. A pH illetve fém-ligandum arány változtatására a spektrumok aromás (imidazol) tartományában bekövetkező spektrális változásokat a 37. ábra szemlélteti. Mind az 1:1 összetételű oldatban, mind kétszeres ligandumfelesleg esetén két jelegyüttes detektálható 4,75-ös pH-n, ami az NMR-időskálára vonatkoztatva lassú ligandumcserét jelez a képződő komplex(ek)ben. Az ekvimoláris oldatban ezen a pH-n a ligandum mintegy 35 %-a ZnL komplexben van (33. ábra). Semleges pH-n ilyen összetétel mellett csak egy jelcsoport detektálható, mely az eloszlásgörbével teljesen összhangban van, hiszen a ZnL részecske 100 %-ban képződik ilyen körülmények között. Kétszeres ligandumfelesleg mellett, 6,9-es pH-n azonban ugyancsak egy jelcsoport figyelhető meg a

spektrumokon, ami igen meglepő, hiszen ilyen körülmények között az oldatban $\sim 1:1:1$ arányban található ZnL és ZnL_2H komplex valamint szabad ligandum. Ez a komplexek és a szabad ligandum közötti gyors ligandumcserét jelzi. A cseresebesség növekedésének oka a pH növelésével párhuzamosan nem egyértelmű. Magyarázatára csak feltételezéseink lehetnek. 4,75-ös pH-n a szabad ligandum H_2L és H_3L formában van jelen az oldatban. A lassú cseresebesség kapcsolatban lehet a szabad ligandumban meglevő erős hidrogénhidas struktúrával, mely a komplexképződés hatására összeomlik. Ugyanakkor pH 7 környékén a ligandum egyszerűen protonált formájával történő csere valószínűleg gyors. A ZnL komplexben a ligandum alifás protonjain szelektív jelszélesedés tapasztalható (nincs bemutatva), mely a ligandum komplexen belüli "mozgásának" az eredménye.



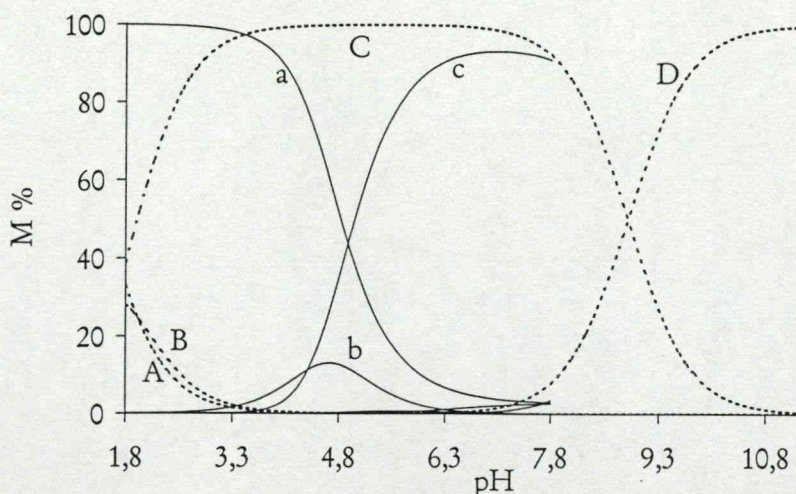
37. ábra: 1H NMR-spektrumok részletei az *imhm*-cink(II) rendszerben.

A: $[L] = [M] = 0,006\text{ M}$, $pH = 3,71$ (a), 4,75 (b) és 6,90 (c);

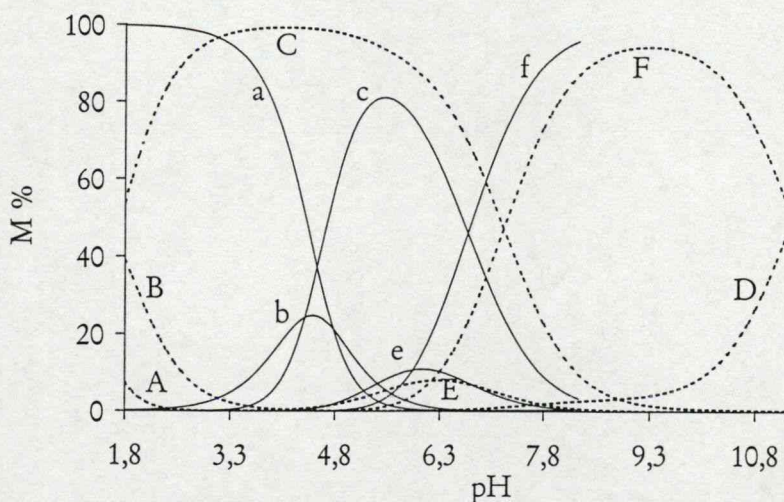
B: $[L] = 2 \times [M] = 0,012\text{ M}$, $pH = 4,74$ (a), 6,90 (b) és 8,00 (c).

A pyrdiam réz(II)- és cink(II)komplexei: A pyrdiam-réz(II) rendszerben 1,8–11,3 pH-tartományban végeztünk pH-metriás titrálásokat. Csapadék leválását nem tapasztaltuk sem ekvimoláris oldatokban, sem ligandumfelesleg esetén. A cink(II)tartalmú oldatokban a titrálások tartománya csapadék leválása miatt jelentősen leszűkült, 1:1 fém-ligandum arány esetén 7,7-es pH környékén, míg ligandumfelesleg mellett pH $\sim 8,3$ -nál tapasztaltuk az oldatok csapadékosodását. A képződő komplexek stabilitási állandóit az 5. táblázatban tüntettem fel. Az 1:1 és 3:1 fém-ligandum összetételű oldatokra számított eloszlásgörbéken látható, hogy az *imhm*-hez hasonlóan a CuL összetételű komplex dominál széles pH-tartományban (38. és 39. ábrák). Savas körülmények mellett, pH 3 alatt a $CuLH$ összetételű protonált komplex is kimutatható az oldatokban kis mennyiségben. Az ekvimoláris rendszerben a CuL törzskomplex ~ 8 -as pH-ig uralkodó, majd 8,87-es pK-val megtörténik ennek deprotonálódása. Az *imhm* ligandummal ellentétben az oldatok koncentrációjának szisztematikus változtatásával sem sikerült kétmagvú részecskéket kimutatnunk, amit a spektroszkópiás méréseink eredményei is igazolnak. Ligandumfelesleg esetén a korábban tárgyalt rendszerek többségéhez hasonlóan CuL_2H és CuL_2 összetételű biszkomplexek képződnek. A réz(II)komplexek szerkezetének vizsgálatához ezúttal is spektrofotometriás és ESR-spektroszkópiás módszereket alkalmaztunk. Az elektrongerjesztési

spektrumokból valamint az izotróp ESR-spektrumok illesztésével meghatározott paramétereket a 7. táblázatban foglaltam össze.



38. ábra: Eloszlásgörbék a pyridiam-réz(II) 1:1 (szaggatott vonal, nagybetűk) és pyridiam-cink(II) 1:1 (folytonos vonal, kisbetűk) rendszerekben. ($[Cu^{2+}]$, $[Zn^{2+}] = 0,004\text{ M}$, $T = 298\text{ K}$, $I = 0,1\text{ M NaClO}_4$)
M (A,a), MLH (B,b), ML (C,c) és MLH_{-1} (D).



39. ábra: Eloszlásgörbék a pyridiam-réz(II) 3:1 (szaggatott vonal, nagybetűk) és pyridiam-cink(II) 3:1 (folytonos vonal, kisbetűk) rendszerekben. ($[Cu^{2+}]$, $[Zn^{2+}] = 0,004\text{ M}$, $T = 298\text{ K}$, $I = 0,1\text{ M NaClO}_4$)
M (A,a), MLH (B,b), ML (C,c), MLH_{-1} (D), ML_2H (E,e) és ML_2 (F,f).

A CuL komplex $d-d$ átmenetére meghatározott elnyelési maximum helye ($\lambda_{\max} = 637\text{ nm}$) csaknem megegyezik az imhm CuL komplexének megfelelő értékével, ami ezúttal is három nitrogéntartalmú donorcsoport koordinálódását mutatja. A $d-d$ elnyelési sávnak a monokomplex deprotonálódását kísérő enyhe eltolódása az alacsonyabb hullámhosszak felé a ligandumtérerő növekedését mutatja a réz(II) ekvatoriális síkjában. Az $CuL \rightarrow CuLH_{-1}$ folyamat kizárólag a fémion koordinációs szférájában elhelyezkedő egyik vízmolekula deprotonálódásával értelmezhető, hiszen más potenciális deprotonálódó csoport nincs a ligandumban. A tapasztalt spektrális változás ezzel összhangban van, hiszen a negatív töltésű hidroxidion egy vízmolekulához képest jelentősebb ligandumtérerőt képvisel¹⁴⁷. Az elmondottak alapján a $CuLH_{-1}$ komplex összetétele helyesebben $CuL(OH)^-$ -ként adható meg. Hasonló folyamat révén az imhm-

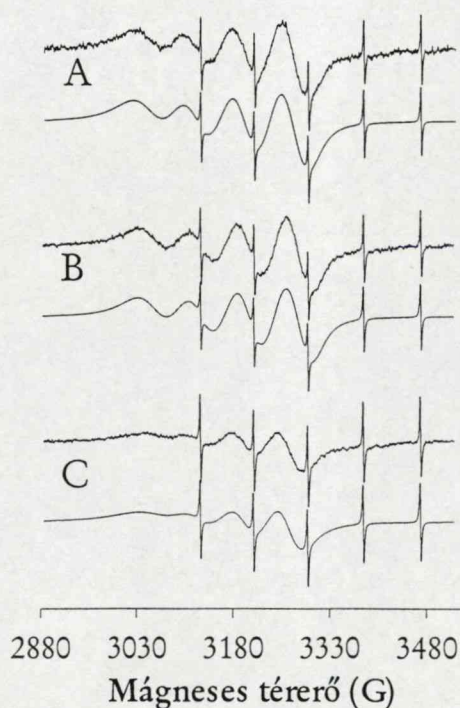
réz(II) rendszerben kétmagvú részecske képződését tapasztaltuk, melyet az ESR-spektrumok intenzitáscsökkenése egyértelműen jelzett. A pyrdiam esetében azonban intenzív, három nirogén donor által koordinált komplexekre jellemző ESR-jeleket mértünk (40. ábra). A CuL és a CuL(OH) ESR-paraméterei igen hasonlóak, utóbbi esetében A_0 enyhe növekedése és g_0 kismértékű csökkenése utal a hidroxidion jelenlétére ekvatoriális helyzetben.

7. táblázat: A pyrdiam–réz(II) rendszerben képződő komplexek spektroszkópai adatai

Komplex	g_0	A_0 (G)	A_N (G) ^(b)	Lw_1 (G)	Lw_2 (G)	Lw_3 (G)	Lw_4 (G)	λ_{\max} (nm) [ϵ] ($M^{-1}cm^{-1}$)
ML	2,117	72,2	9,7 (3)	42	33	26	22	637 [111]
MLH ₋₁	2,113	72,5	9,5 (3)	39	30	23	20	625 [105]
ML ₂	2,115	66,2	6,9 (4)	61	44	33	28	624 [86]

^bNitrogének száma a legjobb illesztést eredményező szimuláció során.

Ligandumfelesleg alkalmazása esetén pH 5 felett a CuL részecskét (CuL₂H komplex kis mennyiségű képződése után) ML₂ összetételű biszkomplex kialakulása követi. A folyamatot spektrofotometriásan követve a $d-d$ sáv enyhe "kék" eltolódását tapasztaljuk (a CuL(OH) képződésekor tapasztaltakhoz hasonló mértékben). Ezzel párhuzamosan a sáv intenzitása is csökkent. Mindez elég jelentősen eltér az imhm biszkomplexeinek kialakulásakor tapasztalt változásoktól, ahol intenzitás növekedést és sokkal jelentősebb (40-60 nm) eltolódást tapasztaltunk a kisebb hullámhosszak felé.



40. ábra: Mért és számított ESR-spektrumok a pyrdiam–réz(II) rendszerben 298 K-en.

A és B: $[L] = [M] = 0,005 M$, pH = 5,80 (A) és 11,66 (B);

C: $[L] = 3 \times [M] = 0,012 M$, pH = 9,27.

Ugyancsak eltérőek a pyrdiam CuL_2 komplexének izotróp ESR-paraméterei is az imhm megfelelő komplexétől. Míg a második ligandum belépése a koordinációs szférába g_0 jelentős csökkenését valamint A_0 és A_N hiperfinom és szuper-hiperfinom csatolási állandók növekedését eredményezte az imhm biszkomplexében a monokomplexhez képest (6. táblázat), addig a pyrdiam esetében g_0 csaknem megegyezik a mono- és biszkomplexben, míg a csatolási állandók utóbbiban lényegesen kisebbek. Az elmondottak lényeges szerkezeti/geometriai különbséget feltételeznek a két ligandum CuL_2 biszkomplexei között, melynek magyarázata a ligandumok szerkezetében keresendő. Az imhm-réz(II) rendszerben a ligandumok háromfogú koordinálódásával létrejövő csatolt {5,6} kelátgyűrűk lehetővé teszik a réz(II) által kedvelt megnyúlt oktaéderes geometriát, melyben a réz(II) koordinációs száma – a két ligandum egy-egy imidazolgyűrűjének axiális koordinációja révén – hatos. A pyrdiam esetében a háromfogú koordináció csatolt ötös kelátok révén valósul meg, amely ugyan a biszkomplex képződést nem gátolja meg, de a spektroszkópiai adatok alapján mindkét ligandum háromfogú koordinációja kizárható. Minthogy a CuL_2H komplex deprotonálódására vonatkozó pK jóval kisebb, mint a szabad ligandum harmadik pK -ja (5. táblázat), ami arra utal, hogy a második ligandum etiléndiamin típusú koordinációval kapcsolódik a réz(II)ionhoz.

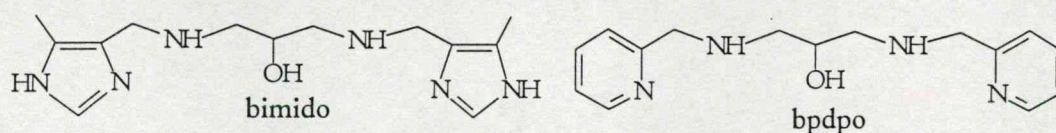
A pyrdiam-cink(II) rendszer a réz(II)-zel megegyező összetételmatrixszal írható le (amint az eloszlásgörbéken is látható (38-39. ábra)), azaz a ligandum-fém aránytól függően ZnLH , ZnL , ZnL_2H és ZnL_2 komplexek képződnek. A monokomplex hidrolízise, mely a ZnLH_2 részecske kialakulásához vezet, csapadék képződésével jár, ami a korábban leírt pH-tartományra korlátozta vizsgálatainkat. A ZnL komplex a várakozásoknak megfelelően jelentősen kisebb stabilitású, mint a megfelelő CuL részecske. Ezzel összhangban kialakulása is jóval nagyobb pH-n kezdődik el (38. ábra). A biszkomplexekre meghatározott stabilitási állandók értéke (4,69: Cu(II) és 5,23: Zn(II)), valamint a ZnL_2H komplex CuL_2H részecskénél kisebb pK -ja azt mutatja, hogy a második ligandum koordinációja cink(II) esetében jóval kedvezményezettebb. Ezt szemléletesen mutatja a $\lg(K_1/K_2)$ értékek hét nagyságrendnyi különbsége is (10,03: Cu(II) és 3,03: Zn(II)). Ezek az adatok a második ligandum eltérő koordinációs módját támasztják alá, mely szerint ellentétben a réz(II)-zel a szabályos oktaéderes ZnL_2 komplexben mindkét ligandum háromfogúként koordinálódik a cink(II)ionhoz.

Érdekesnek tűnik a pyrdiam, imhm és TRIM ligandumok összevetése a biszkomplexek vonatkozásában. pH-metriás és spektroszkópiás eredményeink egyaránt azt sejtetik, hogy a csatolt kelátgyűrűk tagszáma is befolyásolja a réz(II)ion biszkomplexeinek szerkezetét /geometriáját. A TRIM, imhm és pyrdiam {6,6}, {5,6} és {5,5} típusú csatolt kelátgyűrűk kialakulása révén koordinálnak a fémionokhoz. Cink(II)ionnal mindhárom esetben hatos koordinációs számú biszkomplex képződik, amely elsősorban annak köszönhető, hogy a d^{10} elektronkonfigurációjú cink(II)ion – kristálytér-stabilizációs hatások hiányában – sokkal kevésbé érzékeny a koordinációs szféra geometriájára, mint a réz(II), s nincs akadálya a geometria torzulásának illetve a donorcsoportok axiális koordinációjának. Ugyanakkor réz(II) esetében eredményeink arra utalnak, hogy hasonló hatos koordinációs számú geometria csak az imhm ligandum CuL_2 komplexénél lehetséges a megnyúlt oktaéderes szerkezetet eredményező {5,6} csatolt kelátgyűrűknek köszönhetően. Természetesen nem szabad figyelmen kívül hagyni a donorcsoportok minőségét és a ligandumok szerkezetének flexibilitását sem, melyek ugyancsak

befolyásol(hat)ják a biszkomplex képződést (mint azt a pyrdiam etiléndiamin jellegű koordinációja kapcsán tárgyaltam).

5.1.3. 1,3-diamino-2-propanol egységet tartalmazó ligandumok és átmenetifém-komplexeik

Belső hidroxil-funkcióscsoportot tartalmazó ligandumokat gyakorta alkalmaznak kétmagvú fémcentrumot tartalmazó egységek kialakítására. Csoportunk eddigi széleskörű, az imidazolgyűrű koordinációs kémiai sajátágaival foglalkozó kutatásainak részeként előállítottunk egy 1,3-diamino propanol egységet tartalmazó imidazoltartalmú vegyületet valamint annak piridin származékát (4. fejezet). Célunk az volt, hogy olyan vegyületeket nyerjünk, melyek a koordinálódó fémionok számára viszonylag nyitott környezetet teremtenek, ugyanakkor hidroxilcsoportjuk megfelelő távolságban tartja a fémionokat, melynek a hidrolitikus modellvizsgálatoknál lehet fontos szerepe. A vegyületek öt potenciális donorcsoportot tartalmaznak, a láncközi hidroxilcsoport mellett két aminocsoportot, valamint két imidazol- vagy piridingyűrűt (41. ábra).



41. ábra: A bimido és bpdpo sematikus szerkezete

Protonálódási állandók: A ligandumok protonálódási folyamatait pH 2–11 tartományban tanulmányoztuk pH-metriás titrálások segítségével vizes, illetve a bimido esetében 65 tömeg%-os etanol-víz elegyben. (Ez utóbbi közegben az ionerősség állandó értéken tartására 0,05 M koncentrációban nátrium-benzolszulfonátot alkalmaztunk.) A meghatározott pK-értékeket a 8. illetve 10. táblázat foglalja össze. A bimido első két deprotonálódási folyamata az imidazolgyűrűkhöz rendelhető, ennek megfelelően a harmadik és negyedik pK a két aminocsoport deprotonálódását jellemzi. A szerkezetileg nagyon hasonló *N,N'*-bisz(imidazol-4-ilmetil)-1,2-etiléndiamin (bimeda)-hoz képest¹⁴⁸ az imidazolnitrogének bázikusságát növelik a gyűrűhöz 5-pozícióban kapcsolódó elektronküldő metilcsoportok (bimeda: $pK_1 = 3,21$, $pK_2 = 4,26$). Ezek az állandók etanol-víz elegyben a közeg hatása valamint az eltérő ionerősség miatt természetesen módosulnak (8. táblázat). A bpdpo első két pK-ja a piridingyűrű elektron-eloszlásából adódóan jóval savasabb, és elektronküldő csoportok hiányában hasonlóak a rokon ligandum *N,N'*-bisz(2-pikolil)-1,2-etiléndiamin (bpeda) első két pK-értékéhez (1,8 és 2,0)¹⁴⁸.

A bimido réz(II)- és cink(II)komplexei: A bimido-réz(II) rendszerben vizes közegben 1:1 és 2:1 fém-ligandum arány mellett végeztünk titrálásokat. Fémionfelesleg esetén a CuL törzskomplex képződését követő deprotonálódási folyamatok csapadék képződéséhez vezettek, amennyiben az állandó ionerősséget bármilyen háttérelktrolittal biztosítottuk. Háttérelktrolit hiányában ~ 8-as pH-ig nem vált le csapadék, de ilyen körülmények között természetesen nem határoztunk meg stabilitási állandót a képződő komplexekre. A cink(II)tartalmú rendszerekben hasonló problémával találkoztunk. Vizes közegben ekvimoláris vagy ligandumfelesleget tartalmazó oldatokban tudtunk titrálásokat végezni, fémionfelesleg esetén 65 tömeg%-os etanol-víz elegyben, Na-benzolszulfonát háttérelktrolit alkalmazásával biztosítottuk a körülmények állandóságát, mely stabilitási állandók meghatározását is lehetővé tette. A felsorolt rendszerekben és körülmények között képződő komplexeket és a meghatározott állandókat a 8. táblázat foglalja össze.

8. táblázat: A bimido pK -értékei valamint réz(II)- és cink(II)komplexei képződési állandóinak logaritmusai ($\lg \beta$, zárójelben az utolsó tizedes jegyre vonatkozó hibával). (vízes közeg: $I = 0,1 \text{ M NaClO}_4$, $T = 298 \text{ K}$; 65 tömeg%-os etanol-víz elegy: $I = 0,05 \text{ M Na-benzolszulfonát}$, $T = 298 \text{ K}$)

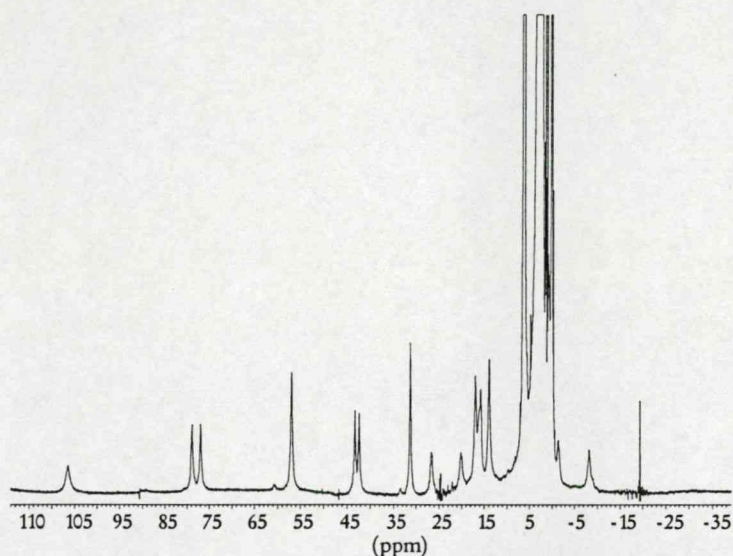
Közeg \rightarrow	H_2O		65 tömeg% EtOH/ H_2O
Komplex \downarrow	réz(II)	cink(II)	cink(II)
pK_1		4,352(6)	3,52(2)
pK_2		5,136(6)	4,15(2)
pK_3		7,531(4)	6,71(1)
pK_4		9,055(4)	8,49(1)
MLH	–	13,83(5)	14,43(2)
ML	18,97(1)	9,63(1)	10,97(1)
MLH_1	7,81(1)	0,10(1)	1,19(3)
M_2LH_2	–	–	–0,37(1)
M_2LH_3	–	–	–10,38(3)
pK_{ML}	11,16	9,53	9,86
$\lg K_{\text{ML}}^{\text{kor}}$	–7,10	–16,44	–11,90
$pK_{\text{M}_2\text{LH}_2}$	–	–	10,01
Illesztett pontok száma	340	366	723
Illesztési paraméter (cm^3)	0,004	0,005	0,008

$$pK_{\text{M}_m\text{LH}_n} = \lg \beta_{\text{M}_m\text{LH}_n} - \lg \beta_{\text{M}_m\text{LH}_{n-1}}; \lg K_{\text{ML}}^{\text{kor}} = \lg K_{\text{ML}} - \lg \beta_{\text{H}_4\text{L}}$$

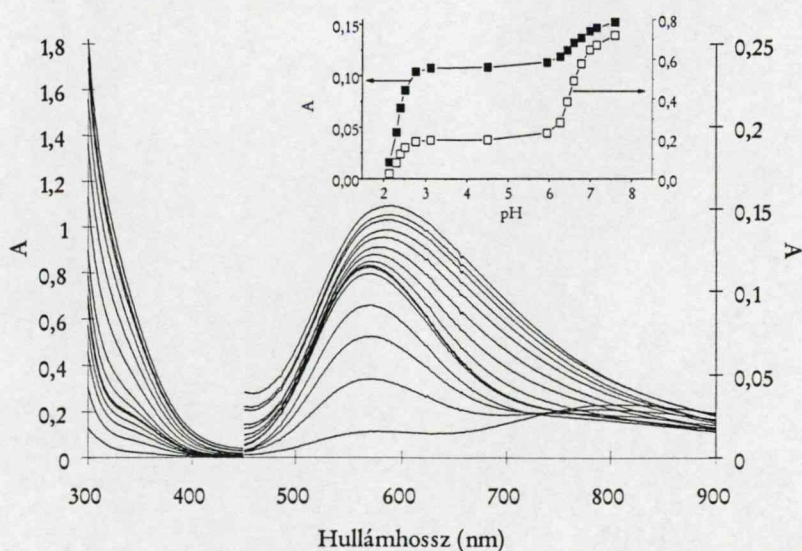
A bimido–réz(II) rendszerben ekvimoláris oldatban és ligandumfelesleg esetén is csak CuL és CuLH_1 összetételű komplexek képződését tapasztaltuk. A CuL részecske – jelentős stabilitásának köszönhetően – már 4-es pH-n domináns ($\sim 100 \%$), ami a négy nitrogéntartalmú donorcsoport koordinációját sejteti a réz(II) ekvatoriális síkjában. Ezt a komplex egyedi ESR- és spektrofotometriás paraméterei teljesen alátámasztják ($g_{\perp} = 2,057$, $g_{\parallel} = 2,221$, $A_{\parallel} = 190,0 \text{ G}$, $g_o = 2,112$, $A_o = 79,0 \text{ G}$, $\lambda_{\text{max}}^{d-d} = 570 \text{ nm}$). Az imidazolnitrogének jelenléte kiemelkedő stabilitást eredményez, melyet jól tükröz a bázicitással korrigált stabilitási állandók nagysága is, összevetve pl. a hasonló szerkezetű 1,4,8,11-tetraaza-undekán megfelelő komplexeinek állandóival (a bimido-ra vonatkozó értékek $\sim 2\text{-}4$ nagyságrenddel nagyobbak)¹⁴⁹. Hasonlóan, a csatolt kelátgyűrűk jelentős extrastabilizációt eredményeznek a rokonvegyület 4-aminometil-imidazol biszkomplexeihez képest (pl. $\lg K(\text{CuL}_2)^{\text{kor}} = -11,0$)¹⁵⁰. A komplex deprotonálódása 11,16-os pK -val történik meg. Az ESR-paraméterek kismértékű változása a folyamat során ($g_o = 2,109$, $A_o = 80,6 \text{ G}$) a réz(II) koordinációs szféráját csak alig érintő változásra utal, ami – figyelembe véve az ekvatoriális pozíciók betöltöttségét és a magas pK -értéket valamint egyéb irodalmi adatokat³⁶ – nagy valószínűséggel az egyik pirrolos imidazolnitrogén deprotonálódása.

Visszaulva a fejezet elején leírtakra, célunk kétmagvú komplexek előállítására és vizsgálata volt, azonban oldékonysági problémák miatt fémionfelesleg esetén pontos egyensúlyi

vizsgálatokat nem tudtunk végezni. Háttélelektrolit jelenléte nélkül azonban spektrofotometriás és ESR-spektroszkópiás módszerekkel sikerült igazolnunk kétmagvú komplexek képződését, s arról szerkezeti információkat gyűjtenünk. Emellett metanolos közegből a ligandumhoz 2 ekvivalens mennyiségű $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ -ot, 6 ekvivalens NaOH -ot és 1 ekvivalens difenil-foszforsavat (DPP, Aldrich) adva röntgenkristallográfiás mérésre alkalmas egykristályt állítottunk elő. A kristály előállításának menete, a kristályszerkezet részletezése, valamint a kristallográfiás adatok (a jellemző kötőszög- és kötéstávolság-értékekkel) a Függelékben található. A kristály deuterált DMSO-ban való feloldása után mért ^1H NMR-spektrumunk a 42. ábrán látható. A ligandum jelei ~ 120 ppm-es tartományra "terülnek szét". Ugyan a jeleket nem tudtuk azonosítani, az a tény, hogy elfogadható feloldású NMR-spektrumot detektáltunk arra utal, hogy a réz(II)centrumok antiferromágneses kölcsönhatásban vannak egymással, ami a kétmagvú egység jelenlétét jelzi az oldatban¹⁵¹.

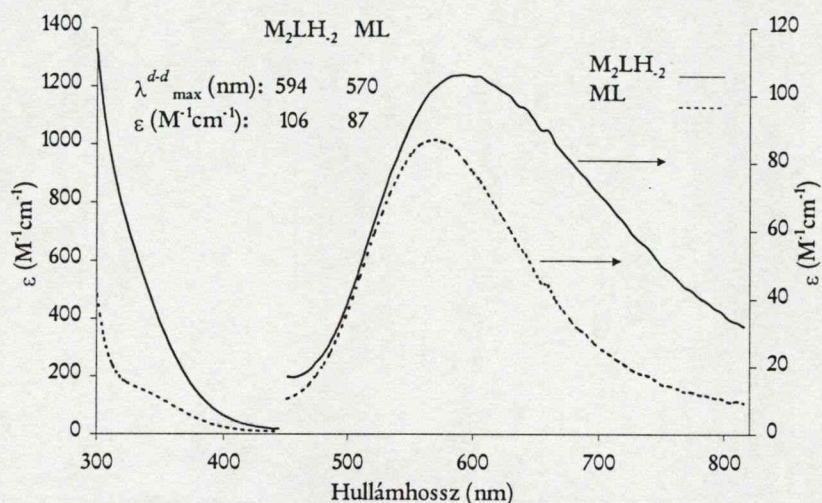


42. ábra: A bimido kétmagvú réz(II)komplexének ^1H NMR-spektruma DMSO-d_6 -ban

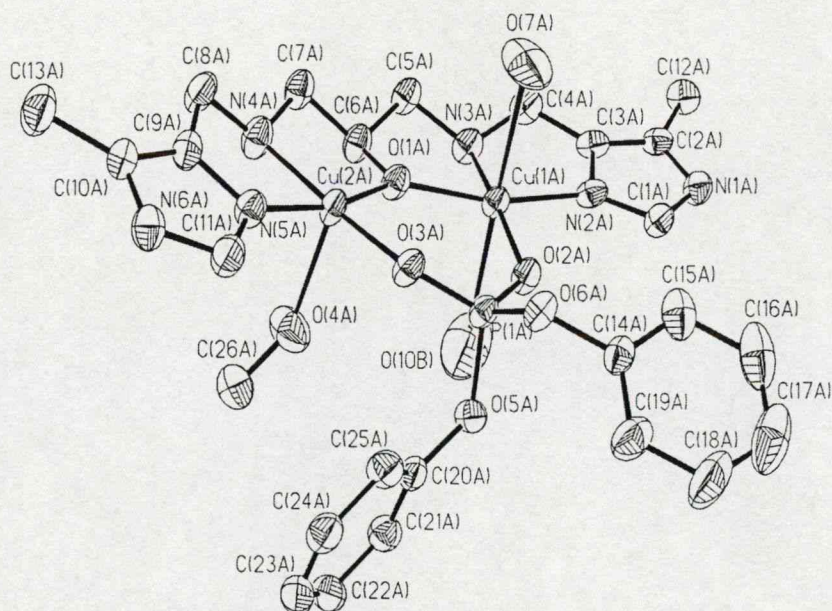


43. ábra: pH-függő elektrongerjesztési spektrumok a bimido-réz(II) 2:1 rendszerben ($[\text{Cu}^{2+}]_0 = 2,01 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $I \sim 0 \text{ M}$). A belső ábra az abszorbanciaváltozást mutatja 320 (\square) és 592 nm-en (\blacksquare).

A ligandumot és réz(II)iont 1:2 arányban tartalmazó oldatot pH-metriásan titrálva pH 6–8 között két erőteljesen átfedő deprotonálódási folyamat figyelhető meg. A változást spektrofotometriásan is követtük (43. ábra), s a $d-d$ átmeneti sáv nagyobb hullámhosszak felé történő eltolódását tapasztaltuk. A kombinált pH-metriás/spektrofotometriás adatsorokból kiszámítottuk a rendszerben képződő két fő komponens egyedi elektrongerjesztési spektrumait, melyek a meghatározott spektrális paraméterekkel együtt a 44. ábrán láthatók. Ugyanezen pH-tartományban a felvett ESR-spektrumok intenzitása drasztikusan csökken, jelezve az előbb már említett antiferromágneses kölcsönhatást a fémionok között. A felsorolt eredmények a donorcsoportok átrendeződését mutatják a réz(II)ion(ok) koordinációs szférájában.



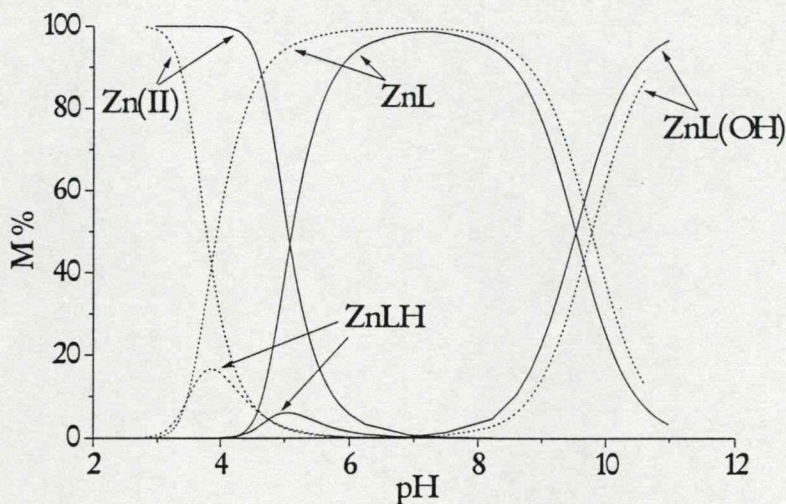
44. ábra: A Cu_2LH_2 és CuL komplexek egyedi elektrongerjesztési spektruma



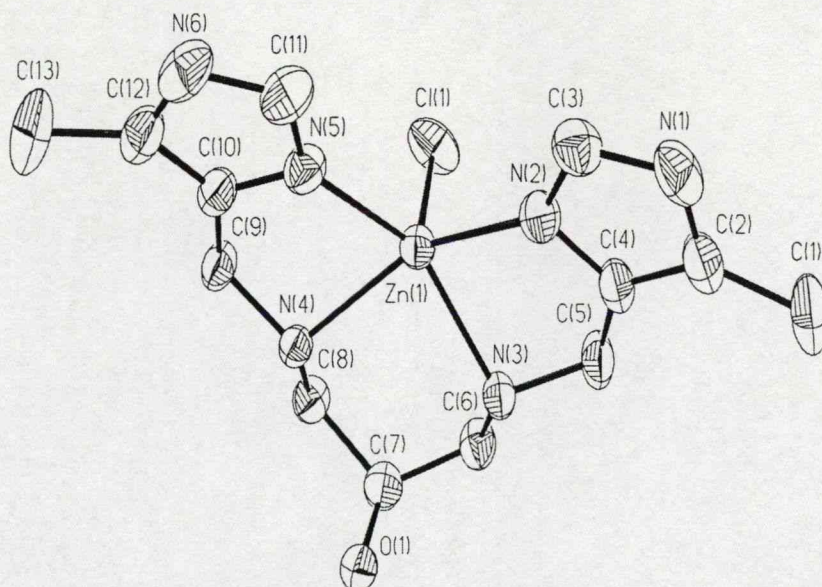
45. ábra: A $[\text{Cu}_2(\text{LH}_{-1})(\text{DPP})(\text{ClO}_4)(\text{CH}_3\text{OH})]\text{ClO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ komplex röntgen-szerkezete ORTEP ábrázolásban. A hidrogénatomok és a perklorátionok O(7A) és O(10B) kivételével nincsenek feltüntetve.

Az előállított szilárd komplex szerkezete, bár közvetlen bizonyítékot nem szolgáltat az oldatbeli szerkezetre, támpontot adhat a felsorolt spektroszkópiás eredmények megértéséhez. A szilárd, kétmagvú komplexben a két réz(II)ionhoz 1-1 imidazolgyűrű és 1-1 aminocsoport

koordinálódik ekvatoriális pozíciókban. A fémcentrumokat a ligandum deprotonálódott alkoholos hidroxilcsoportja valamint a difenil-foszfát μ -1,3-hidas formában kapcsolja össze (45. ábra). (Axiális pozíciókban metanol és perklorátionok helyezkednek el.) A spektroszkópai adatok összhangban vannak ezzel a szerkezettel, difenil-foszfát hiányában a tapasztalt két deprotonálódási folyamat valószínűleg az alkoholos hidroxilcsoport és egy vízmolekula deprotonálódásához rendelhető.



46. ábra: Eloszlásgörbék a bimido-cink(II) 1:1 rendszerben vizes (folytonos vonal) és 65 tömeg%-os Et-OH/víz közegben (szaggatott vonal) ($[Zn^{2+}] = 0,003\text{ M}$)



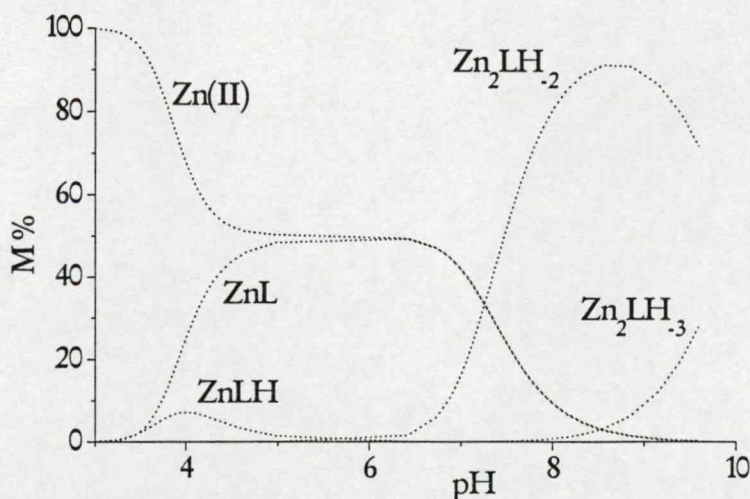
47. ábra: A $[Zn(bimido)Cl]NO_3$ komplex röntgenszerkezete ORTEP ábrázolásban. A hidrogénatomok és a nitrátion nincsenek feltüntetve.

A bimido-cink(II) rendszerben 1:1 ligandum-fém aránynál illetve ligandumfelesleg alkalmazásakor a réz(II)ionhoz hasonlóan ML és MLH_{-1} összetételű komplexek dominálnak, de savas körülmények között kis mennyiségben a protonált MLH részecske is képződik. Kisebb stabilitása következtében a ZnL komplex kialakulása nagyobb pH-n kezdődik el ($pH \sim 4,5$), mint a megfelelő réz(II)komplexé, de 6-os pH-n már dominál (46. ábra). A jelentős stabilitás ezúttal is

a négy nitrogéndonor koordinációját sugallja, amit a metanolos ekvimoláris összetételű oldatból előállított egykristály röntgenszerkezete is alátámaszt (47. ábra). A kristály előállításának és szerkezetének részletes leírását a krisztallográfiás adatokkal együtt a Függelék tartalmazza. A szilárd komplexben a cink(II)ionhoz a két imidazolgyűrű valamint a két aminocsoport egy síkot alkotva koordinálódik, melyből a cink(II)ion kissé kiemelkedik. Axiális pozícióban egy kloridion koordinálódik a fémionhoz, így a komplex szerkezete enyhén torzult négyzetes piramis.

A ZnLH_1 komplex kialakulása 9,53-as pK -értékkel írható le, mely valószínűleg egy vízmolekula deprotonálódásaként értelmezhető. Az alkoholos hidroxilcsoport deprotonálódása, elsősorban szterikus okokból, nem valószínű. A réz(II)-nél javasolt pirrolos imidazolnitrogén deprotonálódás fémion-koordináció nélkül ilyen alacsony pH -n ugyancsak valószínűtlen cink(II)komplexekben.

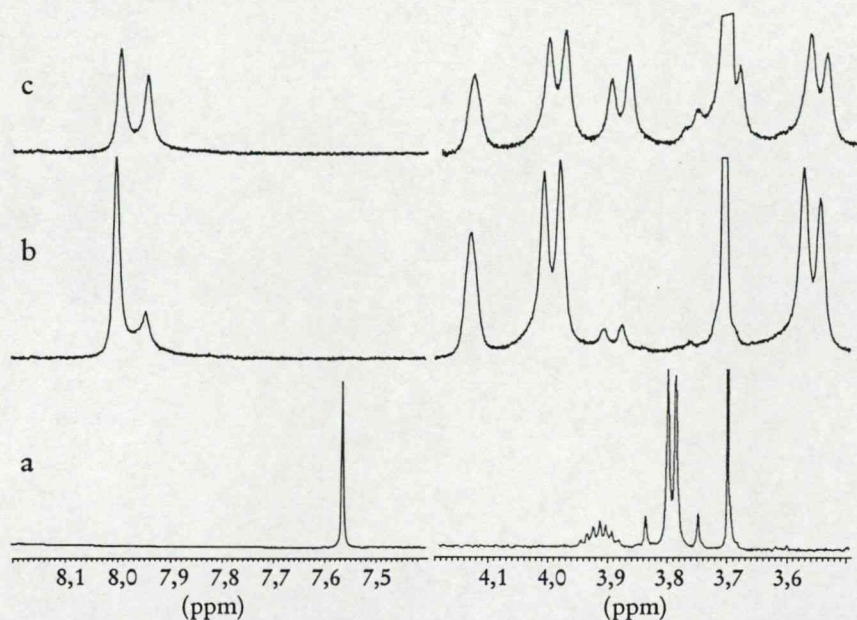
A réz(II)ion-tartalmú oldatokhoz hasonlóan a bimido–cink(II) rendszerben is oldhatósági problémák merültek fel fémionfelesleg alkalmazása esetén, mely vizes közegben a kétmagvú komplexek tanulmányozását lehetetlenné tette. Etanol-víz elegyben (65 tömeg%), Na-benzolszulfonáttal beállított kisebb ionerősség mellett azonban nem tapasztaltuk csapadék leválását a vizsgált pH -tartományban. A megváltoztatott körülményekre való tekintettel szükséges volt mind a protonálódási állandók ismételt meghatározása, mind az ekvimoláris és ligandumfelesleget tartalmazó rendszerek vizsgálata. Amint azt a 8. táblázatban megadott értékek mutatják, az oldat kisebb permittivitásának köszönhetően a pK -értékek is kisebbek a vizes közeghez képest. Az etanolos közeg kedvez az asszociációs folyamatoknak, aminek következtében a ZnLH és ZnL komplexek stabilitása jelentősen nagyobb. Kétszeres fémionfelesleg alkalmazásakor pH 6,5–8 között két erősen átfedő deprotonálódási folyamat játszódik le, melynek eredménye a kétmagvú Zn_2LH_2 részecske kialakulása (48. ábra). Magasabb pH -n további protonvesztéssel Zn_2LH_3 komplex képződik.



48. ábra: Eloszlásgörbék a bimido–cink(II) 1:2 rendszerben 65 tömeg%-os Et-OH/víz elegyben ($[\text{Zn}^{2+}] = 0,003 \text{ M}$)

A bimido–cink(II) rendszerben képződő komplexek szerkezetét ^1NMR -spektroszkópiával tanulmányoztuk. A 65 tömeg%-os etanol-víz elegy az NMR-vizsgálatokhoz nem volt megfelelő, hiszen a ligandum illetve komplex jeleinek megfelelő detektálásához számos rendkívül intenzív oldószerjelet kellett volna lecsatolni. Két eltérő kémiai eltolódású oldószerjel lecsatolása is csak igen körülményesen oldható meg, ezért olyan teljesen deuterált oldószerkeveréket választottunk,

mely a részecskék speciációját a lehető legkisebb mértékben befolyásolja, ugyanakkor az esetlegesen jelenlevő nemdeuterált szennyezés jelei nem zavarják vizsgálatainkat. Ennek megfelelően NMR-méréseinket 65 tömeg%-os $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$ elegyben végeztük. A 49. ábra a különböző fém-ligandum arányoknál 8,6-os pH-n felvett spektrumok részleteit ábrázolja. Az említett pH-n jelenlevő komponensek jeleinek kémiai eltolódás értékeit és a meghatározott csatolási állandókat a 9. táblázatban foglaltam össze.



49. ábra: A bimido ^1H NMR-spektrumának részletei cink(II)ionok jelen- (b,c) és távollétében (a)
 $\text{pH} = 8,6$, közeg: 65 tömeg%-os $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$

a: $[\text{L}] = 0,005 \text{ M}$, b: $[\text{M}] = 0,0022 \text{ M}$, $[\text{L}] = 0,002 \text{ M}$, (c): $[\text{M}] = 0,004 \text{ M}$, $[\text{L}] = 0,002 \text{ M}$

A ZnL komplex jelei szignifikánsan különböznek a szabad ligandum vonalaitól. A két imidazolgyűrűhöz kapcsolódó $-\text{CH}_2-$ csoport hidrogénjeinek jelei a szabad ligandumban mágnesesen nem ekvivalensek. A két hidrogén kémiai eltolódása közötti különbség (vagyis a mágneses inekvivalencia) látványosan megnő a ZnL komplexben. A ligandum koordinációjának hatására a többi vonal is erősen eltolódik (9. táblázat, 49. ábra). A fém-ligandum arány növelése 8,6-os pH-n új jelcsoport megjelenését eredményezi az NMR-spektrumokon, összhangban az M_2LH_2 részecske képződésével. Az új jelek megjelenése az NMR időskálára vonatkoztatott lassú ligandumcserét jelez. Kinetikailag inert(ebb) komplexek megjelenésének oka a fémcentrumok között kialakuló imidazolát- vagy alkoholáthíd lehet. Az imidazolgyűrűk C(2)-H hidrogénjeinek kémiai eltolódása azonban alig változik a kétmagvú komplex képződésére vezető deprotonálódás során. A fémion-indukálta protonvesztés a semleges imidazolgyűrűn, vagyis az imidazoláthíd kialakulása rendszerint jelentős, $\sim 1 \text{ ppm}$ jeleltolódással jár^{4,32}, mely nem összemérhető az általunk detektált 0,06 ppm-es eltolódással. Ezzel szemben a 2-hidroxi-propil egység jelei, különösen a $-\text{CH}$ -csoporté számottevően eltolódnak ($\sim 0,4 \text{ ppm}$). A két megfigyelés együtt arra utal, hogy az új jelcsoportok alkoxohidas kétmagvú komplexhez tartoznak. A komplex szerkezete valószínűleg hasonló a szilárdan meghatározott réz(II)komplexhez. Hasonló környezetű fémcentrumok jelenlétét igazolták korábban egy négyszeresen szubsztituált 1,3-diamino-2-propanol származékban is¹¹. Természetesen a szilárdan előállított réz(II)komplex és a Zn_2LH_2 részecske

protonáltsági állapotában különbözik. A második deprotonálódás a $\text{Zn}_2\text{LH}_{-2}$ -ben egy fémionhoz koordinálódott vízmolekula protonvesztéseként értelmezhető (a réz(II)komplexhez hasonlóan).

9. táblázat: A *bimido-cink(II)* rendszerben 8,6-os pH-n jelenlevő részecskék ^1H NMR kémiai eltolódásai és a meghatározott csatolási állandók ($T = 298\text{ K}$, közeg: 65 tömeg% $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$).

Komplex	$\text{C}(2)\text{-H}_{\text{im}}, 2\text{H}$	$\text{CH-OH}, 1\text{H}$	$-\text{CH}_2\text{-im}, 2\text{H}+2\text{H}$	$\text{CH}_2\text{-CH}, 2\text{H}+2\text{H}$	$\text{CH}_3\text{-im}, 6\text{H}$
Szabad lig.	s, 7,56	m, 3,92 ^a	m, 3,81, 3,78 ^{b1}	m, 3,27, 3,09 ^{a,c1}	s, 2,21
ZnL	s, 8,00	m, 4,13	m, 3,99, 3,56 ^{b2}	m, 3,27, 3,09 ^{c2}	s, 2,22
$\text{Zn}_2\text{LH}_{-2}$	s, 7,93	m, 3,75	m, 3,88, 3,70 ^{b3}	m, - ^d , 2,97 ^{c3}	s, 2,13
	s, 7,98	m, 4,13	m, 3,98, 3,55 ^{b4}	m, 3,26, 3,08 ^{c4}	s, 2,22

s: szingulett, m: multipliett

^a Három kötésen keresztüli csatolás a CH-OH hidrogén és a két inekvivalens $\text{CH}_2\text{-CH}$ hidrogén között:
 $^3J = 4,7$ és $7,4\text{ Hz}$.

^{b1-4} Két kötésen keresztüli csatolás az inekvivalens $\text{CH}_2\text{-im}$ hidrogének között:
 $^2J = 13,4, 14,0, 15,0$ és $13,8\text{ Hz}$ ^{b1, b2, b3} és ^{b4} esetén.

^{c1-4} Két kötésen keresztüli csatolás az inekvivalens $\text{CH}_2\text{-CH}$ hidrogének között:
 $^2J = 12,2, 11,7, 11,2$ és $12,0\text{ Hz}$, ^{c1, c2, c3} és ^{c4} esetén.

^d Az oldószer jelével való átfedés miatt a kémiai eltolódás érték nem meghatározható.

Amint azt a 49. ábra mutatja, a ligandumnak mintegy 45 %-a van csak a tárgyalt kétmagvú komplexben 8,6-os pH-n, kétszeres fémionfelesleg jelenlétében, 55 %-a azonban gyorsan cserélődő komponensekben található. Ennek egyszerű magyarázata az lehetne, hogy a $\text{Zn}_2\text{LH}_{-2}$ és ZnL komplexek mellett a fémion mennyiségének $\sim 27,5\%$ -a szabad formában van jelen. Ezt azonban cáfolja, hogy ligandum távollétében pH 7 felett már 0,3 millimólos fémion-koncentráció esetén egyértelműen fehér, $\text{Zn}(\text{OH})_2$ csapadék képződése tapasztalható. Ezzel szemben 2:1 fém-ligandum aránynál még 7 mM-os fémion-koncentráció mellett is teljesen tiszta a vizsgált oldat. Az elmondottak egyetlen elfogadható magyarázata két, $\text{Zn}_2\text{LH}_{-2}$ összetételű protonálódási izomer jelenléte a rendszerben. Ezek egyike a már részletezett lassú cseréjű alkoholáthidas részecske ($\text{Zn}_2\text{LH}_{-1}(\text{OH})$). A másik izomerben a két fémionhoz két-két nitrogéndonor kapcsolódik 5-ös kelátgyűrűket alkotva, és a két a deprotonálódási folyamat egy-egy vízmolekula protonvesztéséhez rendelhető ($\text{Zn}_2\text{L}(\text{OH})_2$). Ez utóbbi izomer ^1H NMR-jelei csak rendkívül kismértékben különböznek a ZnL komplex jeleitől, ugyanis mindkét részecskében a ligandum négy nitrogénjével koordinálódik a fémion(ok)hoz. A protonálódási izomerek rendszerint gyors kicserélődésben vannak egymással, ám jelen esetben az alkoholos hidroxilcsoport protonálódása/deprotonálódása a koordinációs helyek átrendeződését eredményezi, ami a teljes folyamatot lelassítja. A $\text{Zn}_2\text{L}(\text{OH})_2$ részecske gyors cserében marad a ZnL és L komponensekkel.

A pH 10 környékén lejátszódó újabb deprotonálódás $\text{Zn}_2\text{LH}_{-3}$ összetételű komplex képződését eredményezi, melynek összetétele helyesen nagy valószínűséggel $\text{Zn}_2\text{LH}_{-1}(\text{OH})_2$.

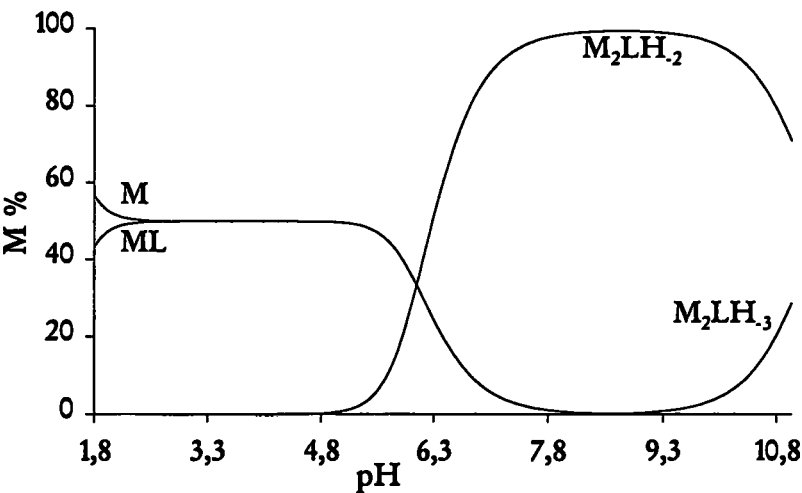
A bpdpo réz(II)komplexei: A bpdpo-réz(II) rendszerben vizes közegben potenciometriásan meghatározott komplexeket és képződési állandókat a 10. táblázat tartalmazza. Ligandum felesleg esetén illetve 1:1 összetételű oldatokban nagy stabilitású, egymagvú CuL komplex képződik, mely pH 3–11 tartományban az egyedül jelenlevő részecske. Kétszeres fémionfelesleget alkalmazva pH 6–8 között két erősen átfedő deprotonálódási folyamat játszódik

le, mely a Cu_2LH_2 komplex képződéséhez vezet (50. ábra). Az említett részecske egy további deprotonálódás révén 10,5-es pH felett M_2LH_3 komplexszé alakul. A fémioneloszlás hasonló, mint a korábban bemutatott bimido–réz(II) rendszerben, azonban a piridin- és imidazolgyűrűk koordinációs sajátságának különbözősége miatt eltérések is megfigyelhetők, pl. a CuLH és CuLH_1 részecskék hiánya a bpdpo esetében.

10. táblázat: A bpdpo pK-értékei valamint réz(II)komplexei képződési állandóinak logaritmusai ($\lg \beta$, zárójelben az utolsó tizedes jegyre vonatkozó hibával). ($I = 0,1 \text{ M NaClO}_4$, $T = 298 \text{ K}$)

	pK	Komplex	$\lg \beta$
pK_1	1,4(2)	CuL	14,78(1)
pK_2	1,86(3)	Cu_2LH_2	5,33(2)
pK_3	6,34(1)	Cu_2LH_3	−6,06(2)
pK_4	8,11(1)	$\lg K_{\text{ML}}^{\text{kor}}$	−2,92
Illesztett pontok száma	605	$\text{pK}_{\text{M}_2\text{LH}_2}$	11,39
Illesztési paraméter (cm^3)	0,01		

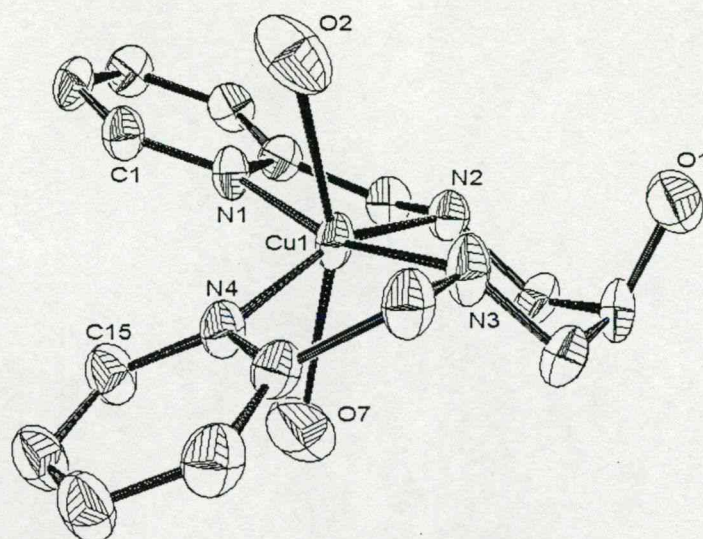
$\text{pK}_{\text{M}_m\text{LH}_n} = \lg \beta_{\text{M}_2\text{LH}_2} - \lg \beta_{\text{M}_2\text{LH}_{n-3}} ; \lg K_{\text{ML}}^{\text{kor}} = \lg K_{\text{ML}} - \lg \beta_{\text{H}_4\text{L}}$



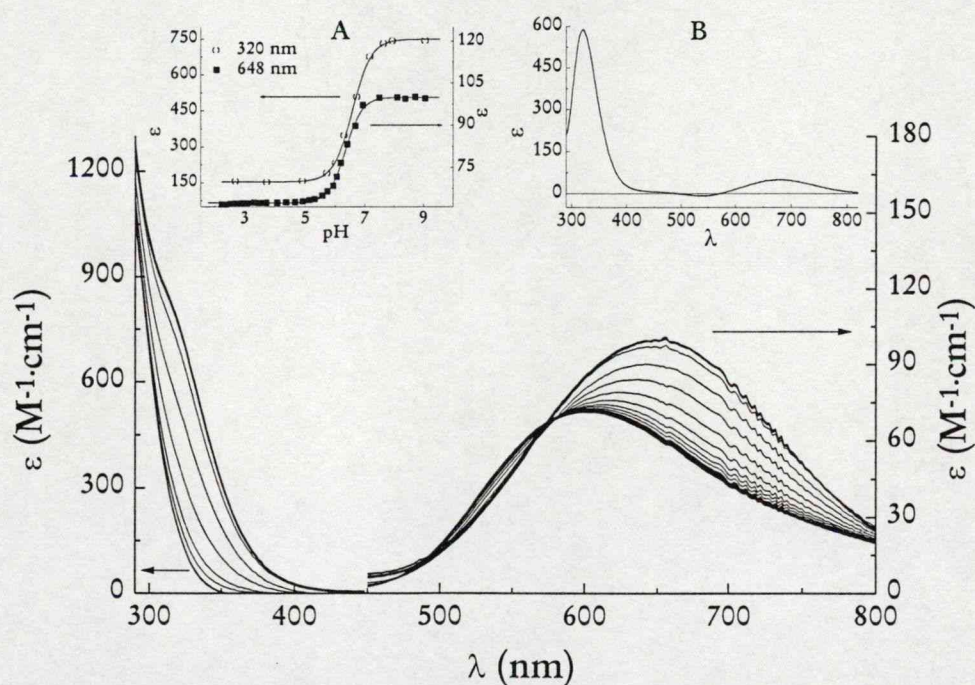
50. ábra: Eloszlásgörbék a bpdpo–réz(II) 1:2 rendszerben ($[\text{Cu}^{2+}] = 0,003 \text{ M}$)

A CuL komplex jelentős stabilitása, valamint a meghatározott spektroszkópiás paraméterek ($g_{\perp} = 2,061$, $g_{\parallel} = 2,221$, $A_{\parallel} = 180,0 \text{ G}$, $g_o = 2,112$, $A_o = 74,0 \text{ G}$, $\lambda^{d-d}_{\text{max}} = 602 \text{ nm}$) négy ekvatoriális nitrogéndonor koordinációját mutatják. Metanolos közegből a bpdpo–réz(II) 1:1 és 1:2 összetételű rendszerekben is sikerült röntgendiffrakciós mérésre alkalmas egykristályt előállítanunk. A szilárd komplex előállításának és szerkezetének részletes leírása valamint a kristallográfiás adatok a Függelékben található. A röntgenmérések az ekvimoláris oldatból előállított komplex esetében négy nitrogén ekvatoriális koordinációját mutatják a monokomplexben, mely alátámasztja az oldatszerkezet-vizsgálatok eredményeit (51. ábra).

Kétszeres fémionfelesleget tartalmazó oldatokban felvett ESR-spektrumok az intenzitás folyamatos csökkenését mutatják a kétmagvú komplexek képződésének pH-tartományában. Ez a



51. ábra: A $\text{Cu}(\text{bpdpo})(\text{ClO}_4)_2$ komplex röntgenszerkezete ORTEP ábrázolásban. A hidrogénatomok és a perklorát ionok O(2) és O(7) kivételével nincsenek feltüntetve.

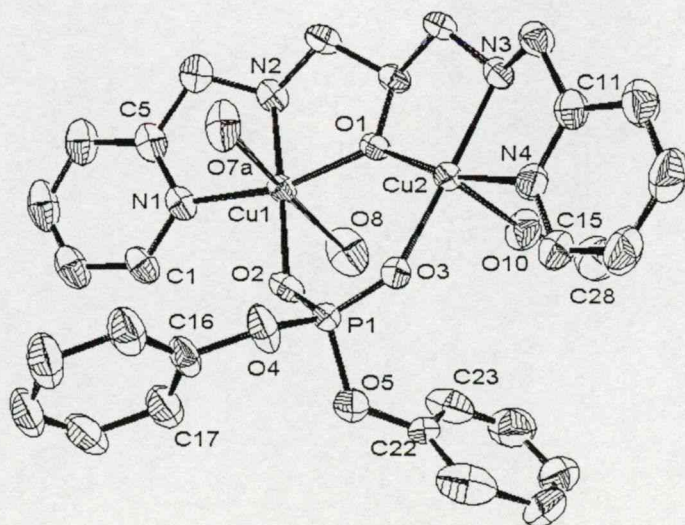


52. ábra: Réz(II)ion-koncentrációra normált pH-függő elektrongerjesztési spektrumok a bpdpo-réz(II) 2:1 rendszerben. Belső ábrák: normált abszorbanciaváltozás 320 (○) és 648 nm-en (■) (A) és a 7,94-es és 3,75-ös pH-n detektált és normált spektrumok különbsége (B).

fémionok közötti erős antiferromágneses kölcsönhatás eredménye, melyet a mérhető ^1H NMR-spektrum is bizonyít. A 100 ppm-es tartományban elhelyezkedő jelek szélesek, de viszonylag könnyen detektálhatók, ellentétben a CuL komplexszel, ahol nem tudtunk NMR-spektrumot felvenni. A $[\text{CuL}]^{2+} + \text{Cu}^{2+} = [\text{Cu}_2\text{LH}_2]^{2+} + 2\text{H}^+$ folyamatot az elektrongerjesztési spektrumok folyamatos változása kíséri (52. ábra). Az 580 nm-s hullámhossznál jelentkező izobesztikus pont egyértelműen jelzi a $\text{CuL} \rightarrow \text{Cu}_2\text{LH}_2$ átalakulást. Az átalakulással párhuzamosan a $d-d$ átmenet maximum helye 50 nm-rel a nagyobb hullámhosszak felé tolódik el és a töltésátviteli sávok hullámhossz-tartományában is változások tapasztalhatók. Az 52B. ábra a két komplex egyedi

spektrumának különbségét mutatja, melyen 324 nm-nél egy határozott sáv látható. Az ESR-mérések eredményei alapján (antiferromágneses kölcsönhatás a fémionok között) a ligandum hidroxilcsoportjának koordinációja valószínűsíthető a Cu_2LH_2 komplexben, mely a szerkezetre is utalva $\text{Cu}_2\text{LH}_1(\text{OH})$ képlettel jelölhető. Egy esetleges, a bimido-cink(II) rendszerhez hasonló $\text{M}_2\text{L}(\text{OH})_2$ összetételű komplex kialakulása esetén szeparált réz(II)ionokat kellene feltételeznünk. Az ESR-jel eltűnése alapján azonban ilyen részecske valószínűleg nem képződik. A 324 nm-nél megfigyelt átmenet a Cu–O–Cu egységhez tartozó ligandum–fém töltésátviteli sávhoz rendelhető¹⁵². A folyamat során a réz(II)ion környezete az ekvatoriális síkban jelentősen megváltozik ($\{\text{N}_4\} \rightarrow \{\text{N}_2\text{O}_2\}$ koordináció), mely összhangban van a $d-d$ átmenet jelentős eltolódásával. Egyéb deprotonálódó csoport hiányában a második deprotonálódási folyamat egy fémionhoz kötött vízmolekula protonvesztéseként értelmezhető. A hidroxidion kétféle módon kötődhet a komplexben: (1) csak az egyik fémionhoz, terminálisan, (2) hídként a két fémiont összekapcsolva. A bpdpo ligandum szerkezetéből adódóan a két fémion $\sim 3,5$ Å távolságra helyezkedik el egymástól, amely meggátolja a hidroxidion $\mu-1,1$ -hidas kötődését¹⁴¹. Ennek értelmében feltételezhető a hidroxidion terminális koordinációja.

Kétszeres fémionfelesleget tartalmazó metanolos oldatból, a ligandumra nézve 1 ekvivalens difenil-foszfát jelenlétében szilárd kétmagvú komplexet állítottunk elő. Az előállítás folyamatát, a kristályszerkezet részletes kifejtését és a krisztallográfiás adatokat a Függelék tartalmazza. A komplex szerkezete rendkívül hasonló a bimido kétmagvú réz(II)komplexéhez. A röntgenvizsgálatok alapján a két réz(II)ionhoz a ligandum három-három foggal koordinálódik, azaz mindkét fémcentrumhoz két-két nitrogéndonor kötődik, s a deprotonálódott alkolos hidroxilcsoport hídként koordinálódik. Emellett a difenil-foszfát $\mu-1,3$ hidas koordinációja is összekapcsolja a két fémiont. Az egyik fémion hatos koordinációjú, az axiális pozíciókban egy-egy perklorátion helyezkedik el ($\{\text{N}_2\text{O}_4\}$ koordinációs szféra), a másik fémion négyzetes piramisos környezetben található, apikális pozícióban egy nemdeprotonálódott metanolmolekulával ($\{\text{N}_2\text{O}_3\}$ koordinációs szféra). A két fémion távolsága 3,499 Å. A kristályszerkezet alátámasztja a vizes oldatra vonatkozó szerkezeti információkat, az ESR-jelek intenzitáscsökkenését és a spektrofotometriás eredményeket.

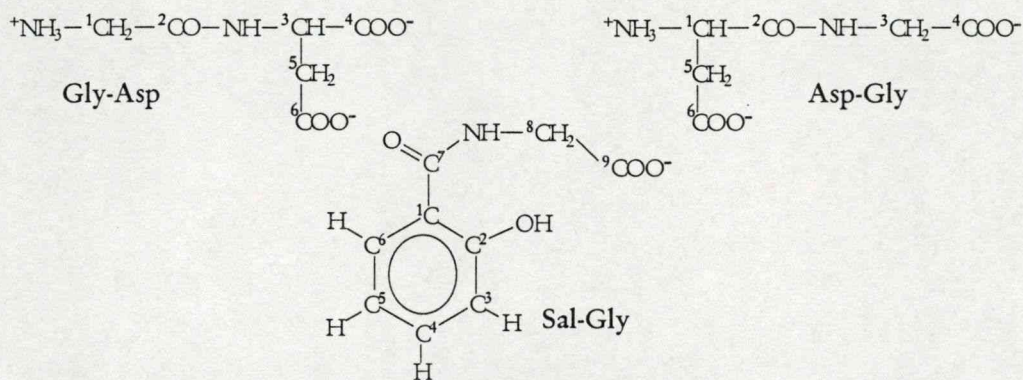


53. ábra: A $[\text{Cu}_2(\text{LH}_1)(\text{DPP})(\text{CH}_3\text{OH})(\text{ClO}_4)]\text{ClO}_4$ komplex röntgenszerkezete ORTEP ábrázolásban. A hidrogénatomok és a perklorátionok O(7A) és O(8) kivételével nincsenek feltüntetve.

Eredményeink alapján a Cu_2LH_2 komplex oldatbeli szerkezete nagyon hasonló a szilárd kristály szerkezetéhez, figyelembe véve, hogy a DPP helyett vizes oldatban egy hidroxidion koordinálódik az egyik fémionhoz. Az elmondottak alapján a kétmagvú komplexet a $\text{Cu}_2\text{LH}_1(\text{OH})$ összetétel megfelelőbben jellemzi.

5.1.4. A glicin-*L*-aszparaginsav, *L*-aszpartil-glicin és szalicil-glicin dimetil-ón(IV)komplexei

A dimetil-ón(IV)ion oldategyensúlyi tulajdonságainak jobb megismerése valamint a oligopeptidekben, proteinekben történő megkötődésének modellezése céljából két dipeptiddel (glicil-*L*-aszparaginsav (Gly-Asp) és *L*-aszpartil-glicin (Asp-Gly)) valamint egy peptid-analóggal (szalicil-glicin (Sal-Gly)) való kölcsönhatását tanulmányoztuk vizes oldatokban. A három kismolekula szerkezetét az 54. ábra szemlélteti.



54. ábra: A Gly-Asp, Asp-Gly és Sal-Gly szemléltetése

Protonálódási állandók: A ligandumok protonálódási állandóit a 11. táblázatban tüntettem fel. A meghatározott pK-értékek összhangban vannak a korábban más szerzők által közölt adatokkal^{42,153-155}.

Egyensúlyi és NMR-vizsgálatok a Gly-Asp-dimetil-ón(IV), Asp-Gly-dimetil-ón(IV) és Sal-Gly-dimetil-ón(IV) rendszerekben: A három tárgyalandó rendszerben pH-metriás titrálásokat végeztünk pH 1,8–11,3 tartományban. Csapadék leválását nem tapasztaltuk. A meghatározott részecskék képződési állandóit a 11. táblázat foglalja össze. A dimetil-ón(IV)kation a vizsgált pH-tartományban stabil, vízzeloldható hidroxokomplexeke képez, melyek képződésére vonatkozó állandókat csoportunk már korábban meghatározta^{60,65}. Ezeket a komplexek stabilitási állandóinak számolása során figyelembe vettük. A képződő komplexek pH-függő eloszlását mutatja be az 55-57. ábra. A két dipeptid esetében a részecskék összetétele azonos és eloszlásuk is rendkívül hasonló. A Sal-Gly-t tartalmazó rendszer sem tér el jelentősen az előbbiektől, mindössze savas pH-tartományban van jelentősebb különbség, melynek oka a második karboxilátcsoport hiánya a ligandumban. Savas pH-tartományban MLH_2 , MLH illetve ML összetételű komplexek képződnek, melyek mellett számottevő koncentrációban a fémion hidrolízistermékei is jelen vannak az oldatokban. Az MLH_2 (Gly-Asp, Asp-Gly) és MLH (Sal-Gly) komplexekre kiszámolt stabilitási állandók értéke (11. táblázat) egyfogú karboxilátkoordinációra utal. Az MLH_2 képződése a ^1H NMR-spektrumokon a jelek igen csekély eltolódását eredményezi a szabad ligandumok jeleihez képest, jelezve a dipeptid-dimetil-ón(IV) kölcsönhatás gyenge, labilis jellegét pH 1,8–3,8 között. A Gly-Asp és Asp-Gly ligandumok esetében az $\text{MLH}_2 \rightarrow \text{MLH} + \text{H}^+$ deprotonálódási folyamat (pK~3) lejátszódása elméletileg három különböző módon is

elképzelhető: (1) a második karboxilátcsoport deprotonálódása, (2) a terminális aminocsoport deprotonálódása, (3) egy kötött vízmolekula protonvesztése. Az első két lehetőségnek több tény is ellentmond. Az aminocsoport pK -jának ~ 6 logaritmus egységgel történő csökkenése rendkívül erős extra stabilizációt feltételez az MLH komplexekben. Ezt eredményezheti pl. $\{5,6\}$ kelátgyűrűk kialakulása, erre azonban csak az Asp-Gly esetében van lehetőség az oldallánci karboxilát részvételével, ugyanakkor a Gly-Asp-nál ilyen extra stabilizáció nem képzelhető el. A negatív töltésű csoportok (így pl. a karboxilátcsoport) koordinációja a koordinációs szférában elhelyezkedő vízmolekula pK -ját – a fémion-víz kötés gyengítése révén – rendszerint a nagyobb pH -k felé tolja el^{65,156}. A rendszereinkben mért $pK \sim 3$ értékek ezzel nincsenek összhangban ($\lg\beta(MH_{-1})=3,18$). Az elmondottak alapján az $MLH_2 \rightarrow MLH + H^+$ folyamat a második karboxilátcsoport deprotonálódásához rendelhető.

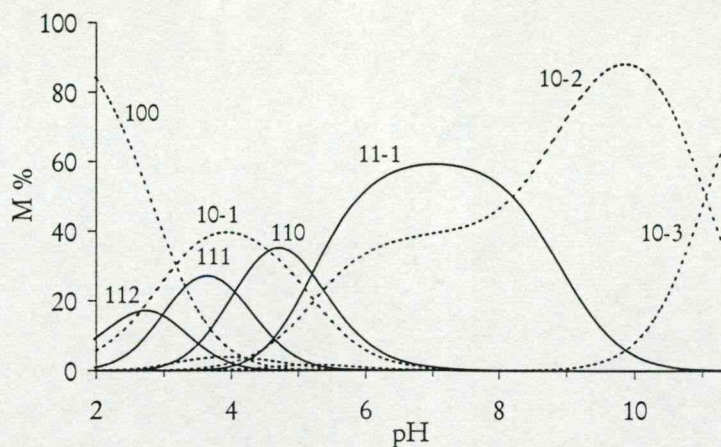
11. táblázat: A Gly-Asp, Asp-Gly és Sal-Gly pK -értékei valamint dimetil-ón(IV)komplexeik képződési állandóinak logaritmusai ($\lg\beta$, zárójelben az utolsó tizedes jegyre vonatkozó hibával). ($I = 0,1\text{ M NaClO}_4$, $T = 298\text{ K}$.) A fémion hidrolízistemékeinek képződési állandói: $MH_{-1} = -3,18$, $MH_{-2} = -8,42$, $MH_{-3} = -19,46$, $M_2H_{-2} = -4,95$, $M_2H_{-3} = -9,96$.

Komplexek	Gly-Asp	Asp-Gly	Sal-Gly
pK_1	8,36(1)	7,99(1)	8,21(1)
pK_2	12,64(1)	11,58(1)	11,59(1)
pK_3	15,38(2)	14,30(1)	–
MLH_2	14,5(2)	13,4(1)	–
MLH	11,6(1)	10,4(1)	10,65(3)
ML	7,51(8)	6,90(5)	6,79(5)
MLH_{-1}	2,30(5)	2,13(2)	2,40(1)
$^*\lg K(MLH_2^+, MLH^b)$	1,89 ^a	1,83 ^a	2,44 ^b
$^{\#}\Delta pK$	1,31	0,56	–
$pK(MLH_2)$	2,97	3,02	–
$pK(MLH)$	4,05	3,49	3,86
$pK(ML)$	5,21	4,77	4,39
Illesztett pontok száma	649	665	637
Illesztési paraméter (cm^3)	0,007	0,004	0,005

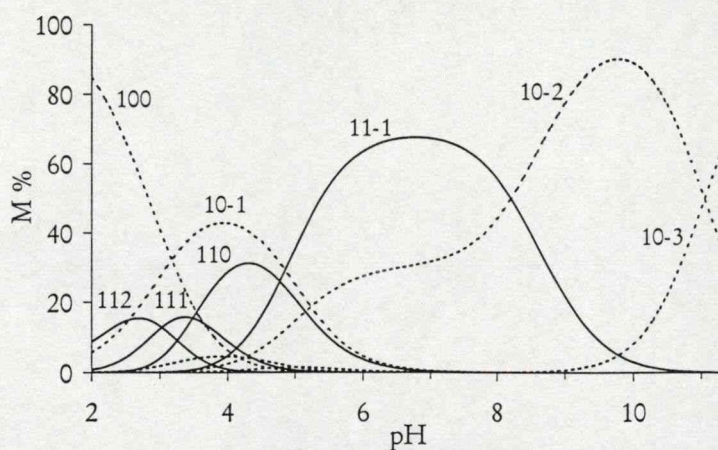
^a $\lg K_{MLH_n} = \lg\beta_{MLH_n} - \lg\beta_{LH_n}$, $n = 2$ (Gly-Asp, Asp-Gly) és 1 (Sal-Gly), mely az egyfogú karboxilát által koordinált komplexek stabilitására vonatkozik.

^b $\Delta pK = pK_2 - pK_{MLH_2}$, csak a Gly-Asp és Asp-Gly esetén értelmezve.

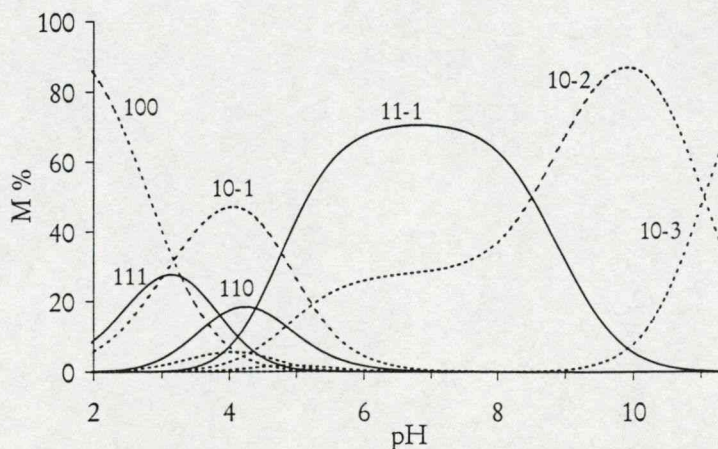
Bár a tárgyalt folyamatra vonatkozó két pK -érték csaknem azonos a két dipeptid esetében, az ML komplex képződéséhez vezető folyamatokra vonatkozó állandókban markáns különbség mutatkozik. Még kifejezettebb ez az eltérés, amennyiben ezeket az értékeket a ligandumok második pK -jához viszonyítjuk (11. táblázat). A két karboxilátcsoport egyidejű koordinálódása révén a Gly-Asp jóval stabilabb 7-es kelát kialakítására képes, mint az Asp-Gly esetében kialakuló



55. ábra: Eloszlásgörbék a Gly-Asp-dimetil-ón(IV) 2:1 rendszerben ($[M] = 0,005 \text{ M}$).
A fénion hidrolízisének termékeit szaggatott vonal jelzi.
A komplexek jelölése az $M_pL_qH_r$ összetétel pqr értékeinek felel meg.



56. ábra: Eloszlásgörbék az Asp-Gly-dimetil-ón(IV) 2:1 rendszerben ($[M] = 0,005 \text{ M}$).
A fénion hidrolízisének termékeit szaggatott vonal jelzi.
A komplexek jelölése az $M_pL_qH_r$ összetétel pqr értékeinek felel meg.



56. ábra: Eloszlásgörbék az Asp-Gly-dimetil-ón(IV) 2:1 rendszerben ($[M] = 0,005 \text{ M}$).
A fénion hidrolízisének termékeit szaggatott vonal jelzi.
A komplexek jelölése az $M_pL_qH_r$ összetétel pqr értékeinek felel meg.

makrokelát, vagy az amidcsoport koordinációja révén létrejövő csatolt kelátok. Mindez megmagyarázza az $MLH \rightarrow ML + H^+$ folyamat pK-értékeinek jelentős különbségét. A folyamatra vonatkozó pK-értékek arra utalnak, hogy ez a deprotonálódás a fémion koordinációs szférájában található vízmolekula protonvesztéseként értelmezhető. A Sal-Gly-dimetil-ón(IV) rendszerben hasonló következtetésre juthatunk az azonos folyamat pK-jának értelmezésekor. Azonban az ML komplex képződése erősen átfed a következő deprotonálódási folyamattal, emiatt a pK-értékek hozzárendelése nem lehet egyértelmű. pH 5 alatt, ahol az eddig tárgyalt folyamatok zajlanak, a 1H NMR-spektrumok csak kismértékű jeletolódást mutatnak a szabad ligandumok jeleihez képest. A Sal-Gly esetében megemlítendő, hogy az amidcsoporttal szomszédos $-CH_2-$ hidrogének fémion távollétében dublett jelet adnak pH ~ 8 -ig, ami a lassú cseréjű amidhidrogénnel való skalár kölcsönhatás eredménye. A Gly-Asp- illetve Asp-Gly-dimetil-ón(IV) rendszerekben felvett ^{13}C NMR-spektrumok a karboxilátszenek viszonylag jelentős, mintegy 1 ppm-nyi eltolódását mutatják a fémionmentes oldatokhoz képest, jelezve a karboxilátcsoportok által koordinált gyors ligandumcseréjű komplexek jelenlétét.

A pH-t növelve újabb deprotonálódási folyamatok játszódnak le mindhárom vizsgált rendszerben, melyek MLH_1 összetételű komplexek képződésére vezetnek (55-57. ábrák). Ezen részecskék széles pH-tartományban (4,5–10,0) jelen vannak az oldatokban és semleges pH környékén még viszonylag kis ligandumkoncentráció esetén is uralkodóak. pH 10 felett mindhárom rendszerben csak a dimetil-ón(IV) hidrolízisének termékei detektálhatók az oldatokban.

Az MLH_1 kialakulása háromféle folyamat révén is elképzelhető, amely lehet: (1) egy második fémion-koordinált vízmolekula deprotonálódása, (2) a terminális aminocsoport (vagy fenolos hidroxilcsoport) protonvesztése, (3) összetett folyamat, mely során a terminális NH_3^+ - vagy fenolos-OH és a peptidnitrogén kooperatív módon deprotonálódik, s emellett a fémionhoz kötött hidroxidion protonálódva távozik a koordinációs szférából.

Ez utóbbi mechanizmust igazolták egyéb dipeptidek (Gly-Gly, Gly-His) és dimetil-ón(IV)kation kölcsönhatásának vizsgálatai⁶⁵. Azonban az oldallánci donorcsoportok illetve a Sal-Gly fenolos hidroxilcsoportja a ligandum koordinációs sajátosságait megváltoztathatják, így a folyamat egyértelmű azonosítása spektroszkópiai vizsgálatok nélkül nem lehetséges. Részletes 1H és ^{13}C NMR-mérésekkel azonban információkat nyerhetünk mind a ligandumok koordinációs módjáról, azaz a koordinálódó donorcsoportokról (elsősorban az $^{117,119}Sn$ - 1H illetve $^{117,119}Sn$ - ^{13}C csatolások révén), mind pedig a kérdéses komplex szerkezetéről.

Az MLH_1 komplex és a szabad ligandumok közötti ligandum csere az NMR időskálán lassú, amit 1H és ^{13}C NMR-spektrumokon új jelek megjelenése mutat. Az $ML \rightarrow MLH_1$ folyamatra meghatározott pK-értékek kisebbek (Asp-Gly, Sal-Gly) vagy hasonlóak (Gly-Asp), mint a fémion hidrolízisére vonatkozó második pK ($pK(MH_1)=5,24$) (11. táblázat). Azonban a tapasztalt lassú ligandumcsere nem magyarázható hidroxo-vegyesligandumú komplexek jelenlétével, melyekben a ligandumok csak karboxilátcsoportokkal vagy {karboxilát, fenolát} makrokelát révén koordinálnak a fémionhoz. (Emellett a lentebb bemutatott spektroszkópiás eredmények is ellentmondanak ennek.) Hasonló megfontolásokból kevésbé valószínű a két dipeptid esetében az aminocsoport egyedüli koordinációja, azonban az NMR-spektrumok részletes elemzése elengedhetetlen a ligandumok koordinációs módjának egyértelmű meghatározásához.

NMR-információk a Gly-Asp koordinációs módjáról az MLH_1 komplexben: A 1H és ^{13}C NMR-jelek hozzárendeléseit, a kémiai eltolódás értékeket és a meghatározott csatolási állandókat a 12-13. táblázatok foglalják össze. A ligandum $-CH-CH_2-$ jeleinek kémiai eltolódása és felhasadási szerkezete alapvetően megváltozik fémion jelenlétében (12. táblázat, 58A. ábra). Emellett a $-CH-$ hidrogén és az ónmag között 28,2 Hz-es csatolás figyelhető meg. Ez lehet a deprotonálódott amidnitrogén fémion-koordinációjának következménye. Ezt sugallja az is, hogy 4,65-ös pH-n, ahol az MLH_1 komplex $\sim 10\%$ -os mennyiségben van jelen, a szabad ligandum $-CH-$ hidrogénje és az amidproton között csatolás detektálható, mely a kötött ligandum megfelelő jelen nem látható.

12. táblázat: A Gly-Asp-dimetil-ón(IV) 2:1 rendszerben, vizes közegben, pH = 7,15-nél mért 1H NMR kémiai eltolódás értékek (ppm) és csatolási állandók (Hz, zárójelben). ($[Gly-Asp] = 0,01\text{ M}$).
A ligandumok egyes hidrogén- illetve szénmagjainak számozása az 54. ábra alapján történt.

Komplex	δ_1	δ_3	δ_5	$\delta_{Sn(CH_3)_2}$ ($^2J_{Sn-H}$)
MLH ₁ komplex	3,542; 3,422 (17,0) ^a	4,190	2,867; 2,778 (15,9) ^a	0,839 (83,3)
	$^3J_{CH_2-NH_2}$ (8,2, $\sim 1,5$; 8,2)	$^3J_{CH-CH_2}$ (4,7, 3,5)	$^3J_{CH_2-CH}$ (4,7, 3,5)	0,663 (77,8)
	$^3J_{H-Sn}$ (12,0) ^b	$^3J_{H-Sn}$ (28,2)		
szabad ligandum vagy szabad kation*	3,761	4,413	2,687; 2,445 (15,9) ^a	0,642 (82,5)
		$^3J_{CH-CH_2}$ (3,8, 10,3)	$^3J_{CH_2-CH}$ (3,8, 10,3)	

* Szabad ligandum vagy szabad kation a dipeptidet és fémiont tartalmazó oldatokban

^a AB típusú hidrogének ^b Az AB típusú hidrogének és az ónmag közötti csatolás

13. táblázat: A Gly-Asp vizes közegben, pH = 7,34-nél mért ^{13}C NMR kémiai eltolódás értékei (ppm) fémion jelen- és távollétében, valamint a meghatározott $^{13}C-Sn$ csatolási állandók (Hz, zárójelben). ($[Gly-Asp] = 2 \times [\text{dimetil-ón(IV)}] = 0,15\text{ M}$. Fémion távollétében: $[Gly-Asp] = 0,05\text{ M}$)^{*}

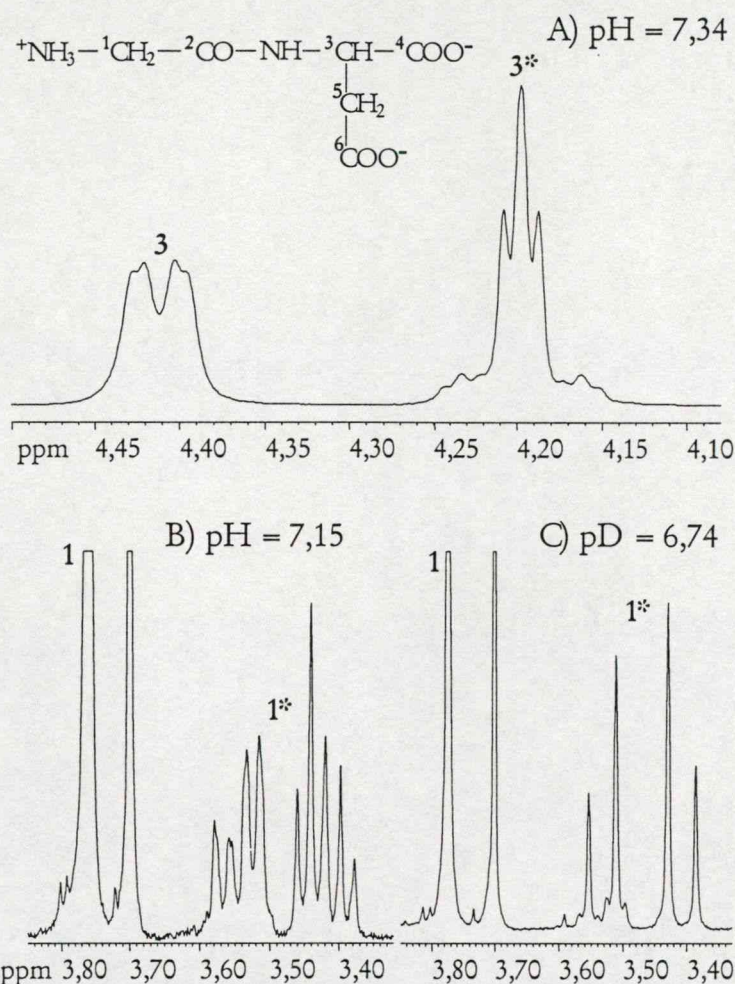
Komplex	δ_1	δ_2	δ_3	δ_4	δ_5	δ_6	$\delta_{Sn(CH_3)_2}$
MLH ₁ komplex	43,93	174,60	54,34	180,74	40,17	179,18	1,44
		($^2J = 37,0$)	($^2J = 18,7$)	($^2J \sim 7$)			($^1J = 647,8$)
							-0,08 ($^1J = 627,2$)
szabad ligandum vagy szabad kation	41,86	168,09	54,18	179,16	40,41	179,62	3,34

* A csatolt kelátgyűrűk következményeként egyéb csatolások (3J (C2, C3, C4) hozzájárulása a megadott J értékekhez nem zárható ki.

[#] Az 5,1-es pH-n mért spektrum alapján megadott kémiai eltolódások.

Az aminosocsoporttal szomszédos $-CH_2-$ hidrogének pH ~ 4 felett fémion jelenlétében drámai változások figyelhetők meg (58B. ábra). Ezek közül talán a legfontosabb a csoport hidrogénjeinek csatolása az NH_2 -csoport hidrogénjeivel. A szabad ligandumban az aminosocsoport hidrogénjei gyors kicserélődésben vannak a közeg (víz) protonjaival. A csatolás megjelenése a cserefolyamat lelassulásának eredménye, mely a csoport fémion-koordinációjának következménye. A $-CH_2-$ csoport jeleinek aszimmetrikus jellege azt is jól mutatja, hogy a

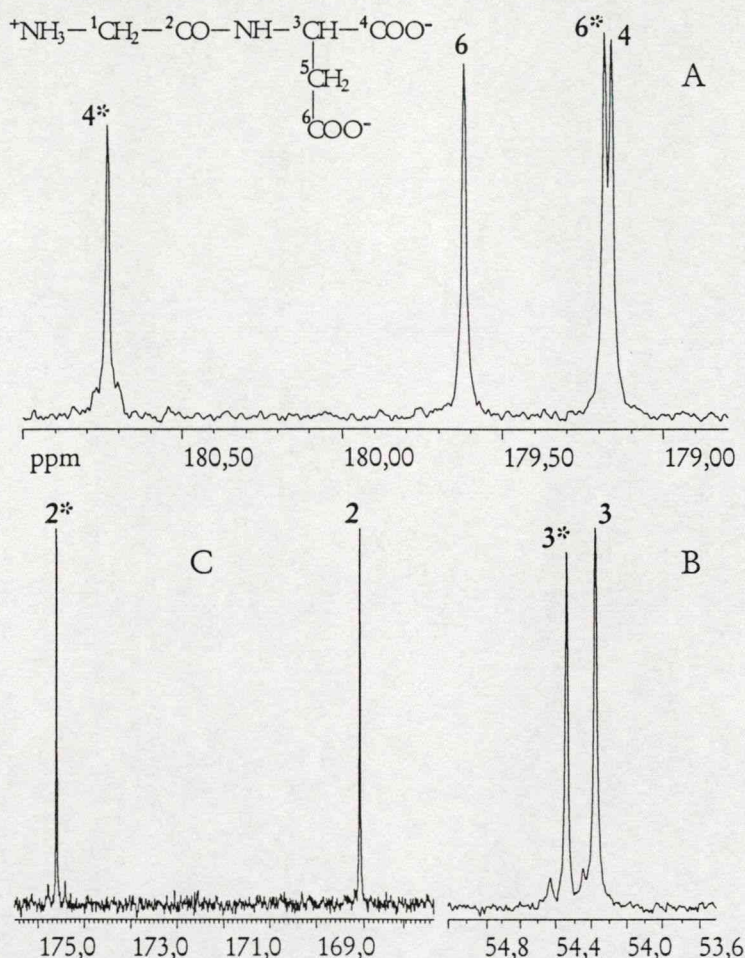
koordináció következtében sem a két $-\text{CH}_2-$, sem a két NH_2 -hidrogén mágnesesen nem ekvivalens. (Hasonló felhasadási szerkezetet figyelt meg kutatócsoportunk korábban a Gly-His ML és MLH_1 komplexében az azonos $-\text{CH}_2-$ csoport jelein is⁶⁵.) A kérdéses spektrumot D_2O -ban is felvettük, ami további bizonyítékot szolgáltatott az aminocsoport koordinációjára (58C. ábra). A $^1\text{H} \rightarrow ^2\text{H}$ csere eredményeként az aminocsoporttal való csatolás megszűnik, igazolva az eddig elmondottakat. Ugyanakkor az egyszerűbb felhasadási szerkezet következményeként az AB felhasadási szerkezetű $-\text{CH}_2-$ csoport egyik jelén láthatóvá válnak az ún. ón szatellit csúcsok a $^{117,119}\text{Sn}$ maggal való spin-spin kölcsönhatás eredményeként ($^3J(^1\text{H}-^{117,119}\text{Sn}) = 11,7 \text{ Hz}$). A ^1H NMR-spektrumok értékelése kapcsán érdemes azt is megjegyezni, hogy a dimetil-ón(IV)kation koordinációja következtében a két metilcsoport protonjainak (és ^{13}C magjainak) jelei mágnesesen inekvivalenssé válnak. A két metilcsoport hidrogénjeinek kémiai eltolódás-különbsége $0,176 \text{ ppm}$, emellett a $^2J(^1\text{H}-^{119}\text{Sn})$ csatolási állandójuk is jelentősen eltér egymástól (12. táblázat).



58. ábra: ^1H NMR-spektrumok részletei a Gly-Asp-dimetil-ón(IV) 2:1 rendszerben, vizes közegben (A,B) és D_2O -ban (C). $[\text{Gly-Asp}] = 0,15 \text{ M}$ (A) illetve $0,01 \text{ M}$ (B,C). (* : a komplexben kötött ligandum jelei)

A ^{13}C NMR-spektrumok további információkat nyújtanak a Gly-Asp koordinációs módjára. A ^{13}C jelek hozzárendelését egyszerű 1D ^{13}C mérésekkel (proton lecsatolás nélkül) és 2D $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ korrelációs spektroszkópia alkalmazásával végeztük. A hozzárendelések eredményei, a kémiai eltolódás és csatolási állandó értékek a 13. táblázatban szerepelnek. A ^1H NMR-spektrumokhoz hasonlóan ezúttal is új jelcsoport megjelenését tapasztaltuk a szabad ligandum jelei mellett. A

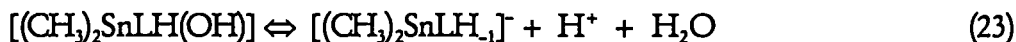
metilcsoportok jelének kettőződése kiralitáscentrum jelenlétére utal a komplexben. A két karboxilát jel közül csak az egyiken detektálható csatolás az ónmaggal, azaz a lassú ligandumcseréjű komplexben csak az egyik karboxilát koordinálódik a fémionhoz (59A. ábra). A kötött karboxilát jelek azonosítása közvetett módon, pH-függő ^{13}C NMR-spektrumok felvételével és a karboxilátcsoportok valamint a szomszédos $-\text{CH}-$ és $-\text{CH}_2-$ csoportok jeleinek követésével történt fémion jelen- és távollétében. A mérések azt mutatják, hogy pH 4,5–6 között a szabad ligandum oldallánci karboxilát jeléhez hasonlóan és azzal teljesen párhuzamosan a komplex egyik karboxilát jele jelentős eltolódást szenved (alacsonyabb terek felé). Ezalatt a komplex másik karboxilát jelének (amelyen az ón szatellitek is láthatók) kémiai eltolódása jóval kisebb mértékben változik. Ehhez hasonlóan a kötött ligandumban az oldallánci karboxiláttal szomszédos $-\text{CH}_2-$ szén kémiai eltolódása jelentősen változik a pH-val, míg a terminális karboxiláttal szomszédos szén ($-\text{CH}-$) kémiai eltolódása alig változik. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a fémionhoz a terminális csoport koordinálódik.



59. ábra: A Gly-Asp-dimetil-ón(IV) 2:1 rendszerben, vizes közegben, 7,34-es pH-n mért ^{13}C NMR spektrum három tartománya (A,B,C). $[\text{Gly-Asp}] = 0,15 \text{ M}$. (* : a komplexben kötött ligandum jelei)

Az amidcsoport szénatomjának jele a komplexben több ppm-mel eltolódik a szabad ligandumhoz képest, emellett 37 Hz-es csatolási állandó detektálható rajta az ónmaggal való kölcsönhatás eredményeként (59B. ábra). A $-\text{CH}-$ csoport jelén ugyancsak megfigyelhetők a skalár csatolás eredményeként megjelenő ón szatellit csúcsok (59C. ábra). Ezek a megfigyelések megerősítik az amidnitrogén koordinációjára vonatkozó ^1H NMR bizonyítékokat.

A potenciometriás és NMR-eredmények alapján a Gly-Asp ligandum az MLH_{-1} komplexben három donorcsoportjával koordinálódik a dimetil-ón(IV)ionhoz, melyek a terminális karboxilát, deprotonálódott amidnitrogén és a terminális aminocsoport. Eszerint az $ML \rightarrow MLH_{-1} + H^+$ folyamat során az amidcsoport és a terminális aminocsoport kooperatív módon deprotonálódik, amit egy hidroxidion protonálódása és a fémion koordinációs szférájából történő távozása kísér. Az alábbi egyenlet a folyamat során tapasztalt egy ekvivalens extra lúgfogyást is magyarázza:



Ezek után joggal merülhet fel a kérdés, hogy mi az oka annak, hogy a pH-függő ^{13}C NMR-spektrumokon – ha különböző mértékben is – a komplex mindkét karboxilátjelének kémiai eltolódása változik a pH függvényében. Ennek magyarázata valószínűleg komplex izomerek képződésében keresendő (amit bizonyítani nem tudunk). Feltételezhető, hogy a lassú ligandumcseréjű MLH_{-1} komplexet megelőző ML részecske nem csak az általunk javasolt formában létezik ($\{COO^-, COO^-, OH^-$ koordinációs szféra}, hanem bizonyos mennyiségben lassú ligandumcseréjű izomerje is jelen lehet az oldatban $\{COO^-, N^-, NH_2\}$, amely komplexben az oldallánci karboxilátcsoport protonált. A pH növelésének hatására ezen csoport deprotonálódik a komplexben, ami magyarázhatja a kötött ligandum jeleinek pH-függő eltolódását.

A metilcsoportok 1H és ^{13}C magjai és az ^{119}Sn mag közti csatolási állandókból ($^2J(^1H-^{119}Sn)$ és $^1J(^{13}C-^{119}Sn)$) az alábbi egyenletek alapján jó közelítéssel kiszámítható a metilcsoportok által bezárt szög a komplexben, amely fontos információ a koordinációs geometriára vonatkozóan.

$$\Theta = 0,0161 \times \left| ^2J_{^{119}Sn-^1H} \right|^2 - 1,32 \times \left| ^2J_{^{119}Sn-^1H} \right| + 133,4^{157} \quad (23)$$

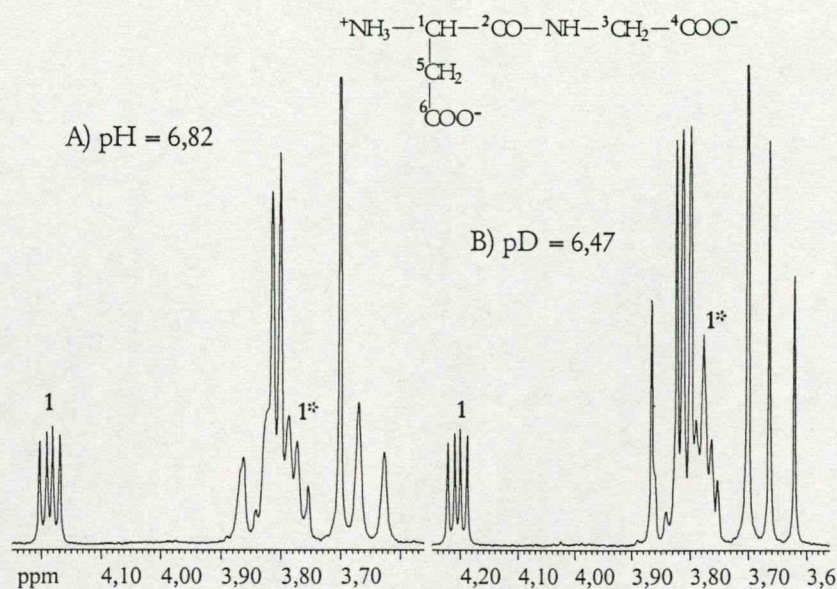
$$\left| ^1J_{^{119}Sn-^{13}C} \right| = 11,4 \times \Theta - 875^{158} \quad (24)$$

$$\left| ^1J_{^{119}Sn-^{13}C} \right| = (9,99 \pm 0,73) \times \Theta - (746 \pm 100)^{159} \quad (25)$$

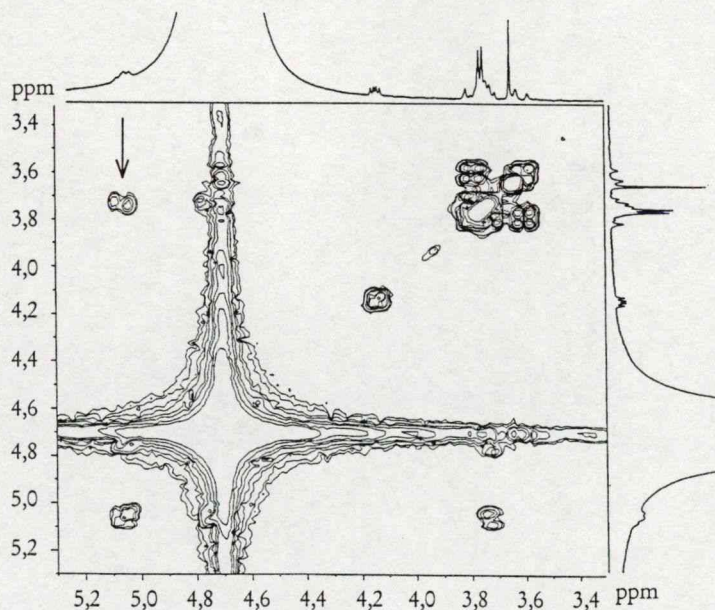
Az így meghatározott szög $\sim 130-140^\circ$, amely arra utal, hogy a szerkezet trigonális bipiramis, és a két metilcsoport ekvatoriális helyzetű (66. ábra).

NMR információk az Asp-Gly koordinációs módjáról az MLH_{-1} komplexben: A 1H és ^{13}C NMR-jelek hozzárendeléseit, a kémiai eltolódás értékeket és a meghatározott csatolási állandókat a 14-15. táblázatok tartalmazzák. A két $-CH_2$ -csoport hidrogénjeinek jelei a komplexképződés hatására eltolódnak és csatolási állandóik is megváltoznak a szabad ligandum jeleihez képest (14. táblázat, 60A. ábra). A 6,84-es pH-n mért spektrumon jól látható a királis szénhez tartozó hidrogén "duplett duplettje" szerkezetű jelének jelentős mértékű nagyobb terek irányában történő eltolódása, és a finomszerkezet megváltozása. A kötött ligandumban mért kémiai eltolódás érték hasonló az aminocsoportján már nemprotonált ligandumra (~ 10 -es pH-n) mért értékhez, ami az aminocsoport fémion-koordinációját sugallja. Az amidcsoporttal szomszédos $-CH_2-$ hidrogének jelei erősen átfednek a kötött ligandum $-CH-$ vonalaival, ami a felhasadási szerkezet értelmezését nagyon megnehezíti. Amint azt a 60B. ábra tükrözi, a felhasadási szerkezet valamelyest egyszerűsödik D_2O -ban. Egyértelmű bizonyítékot az aminocsoport koordinációjára $^1H-H^1$ COSY spektrum felvételével sikerült nyernünk. A $-CH-$ hidrogén és az NH_2- hidrogének közötti

csatolás igazolja az előbb felsorolt megfigyelések alapján is sejthető fémion-koordinációt (61. ábra). Ugyanezt támasztja alá az a tény is, hogy a pH-metriás vizsgálatok során nem észleltük deprotonálódási folyamat lejátszódását 8-as pH körül, ahol a ligandum aminocsoportja fémionok távollétében deprotonálódik.



60. ábra: ^1H NMR-spektrumok részletei az Asp-Gly-dimetil-ón(IV) 1:1 rendszerben, vizes közegben (A) és D_2O -ban (B). $[\text{Asp-Gly}] = 0,01 \text{ M}$. (*: a komplexben kötött ligandum jelei)



61. ábra: $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY spektrum részlete az Asp-Gly-dimetil-ón(IV) 1,33:1 rendszerben, vizes közegben pH = 6,82-nél. $[\text{Asp-Gly}] = 0,15 \text{ M}$

Egyéb donorcsoportok koordinálódását bizonyító információhoz a ^{13}C NMR-spektrumok elemzésével juthatunk. A két karboxilátszén kémiai eltolódása a szabad ligandumban pH = 6,82-nél csaknem azonos (a különbség mindössze 0,02 ppm, 15. táblázat). pH 7 felett, az aminocsoport deprotonálódásával párhuzamosan, az egyik jel jelentős eltolódást szenved.

Feltételezhető, hogy az aminocsoport protonáltsági állapota jobban befolyásolja az oldallánci karboxilát kémiai eltolódását, mint a terminálisét, ami lehetővé teszi a jelek hozzárendelését.

14. táblázat: Az Asp-Gly-dimetil-ón(IV) 2:1 rendszerben, vizes közegben, pH = 6,84-nél mért ^1H NMR kémiai eltolódás értékek (ppm) és csatolási állandók (Hz, zárójelben). ($[\text{Asp-Gly}] = 0,01 \text{ M}$)
A ligandumok egyes hidrogén- illetve szénmagjainak számozása az 54. ábra alapján történt.

Komplex	δ_1	δ_3	δ_5	$\delta_{\text{Sn}(\text{CH}_3)_2}$ ($^2J_{\text{Sn-H}}$)
MLH ₁ komplex	3,786	3,825; 3,788 (18,9) ^a	2,648	0,813 (82,2)
	$^3J_{\text{CH-CH}_2}$ (5,3)		$^3J_{\text{CH}_2-\text{CH}}$ (5,3)	0,771 (81,6)
	$^3J_{\text{CH-NH}_2}$ (~5,3)			
szabad ligandum vagy szabad kation*	4,180	3,840; 3,650 (17,5) ^a	2,763; 2,641 (17,0) ^a	0,643 (82,5)
	$^3J_{\text{CH-CH}_2}$ (4,7, 8,8)		$^3J_{\text{CH}_2-\text{CH}}$ (4,7, 8,8)	

* Szabad ligandum vagy szabad kation a dipeptidet és fémiont tartalmazó oldatokban

^a AB típusú hidrogének

15. táblázat: Az Asp-Gly vizes közegben, pH = 6,82-nél mért ^{13}C NMR kémiai eltolódás értékei (ppm) fémion jelen- és távollétében, valamint a meghatározott ^{13}C -Sn csatolási állandók (Hz, zárójelben)*.
($[\text{Asp-Gly}] = 2 \times [\text{dimetil-ón(IV)}] = 0,15 \text{ M}$. Fémion távollétében: $[\text{Asp-Gly}] = 0,05 \text{ M}$)

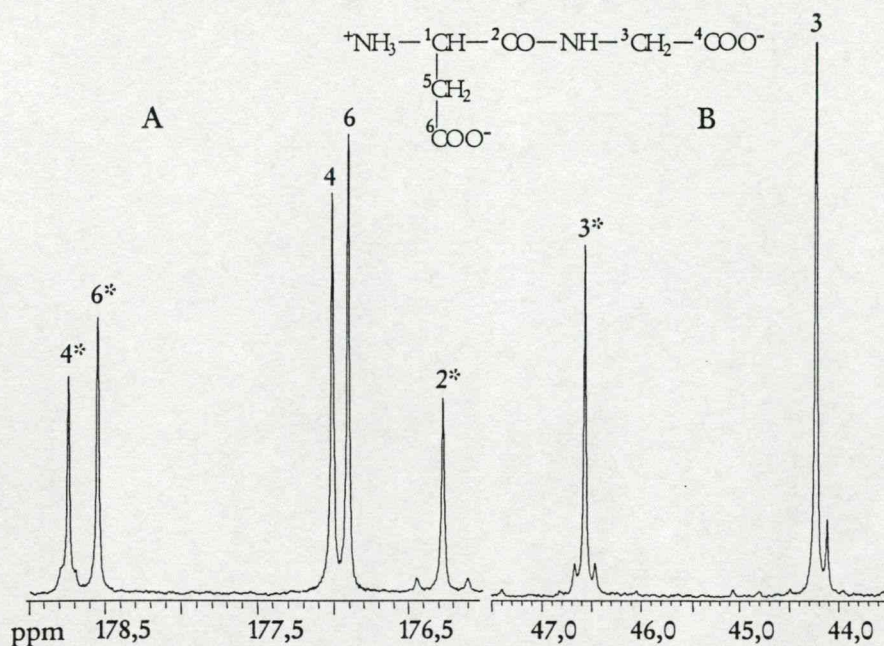
Komplex	δ_1	δ_2	δ_3	δ_4	δ_5	δ_6	$\delta_{\text{Sn}(\text{CH}_3)_2}$
MLH ₁ komplex	53,21	176,45	46,56	178,77	39,68	178,79	1,79
		($^2J = 34,5$)	($^2J = 21,3$)	($^2J \sim 8$)		178,55 [#]	($^1J = 657,7$)
				178,74 [#]			0,69 ($^1J = 651,1$)
szabad ligandum vagy szabad kation	52,05	170,65	44,34	177,16	38,16	177,18	3,59
				177,01 [#]		176,91 [#]	

* A csatolt kelátgyűrűk következményeként egyéb csatolások (3J (C2, C3, C4) hozzájárulása a megadott J értékekhez nem zárható ki.

[#] A pH = 5,1-nél mért spektrum alapján megadott kémiai eltolódások

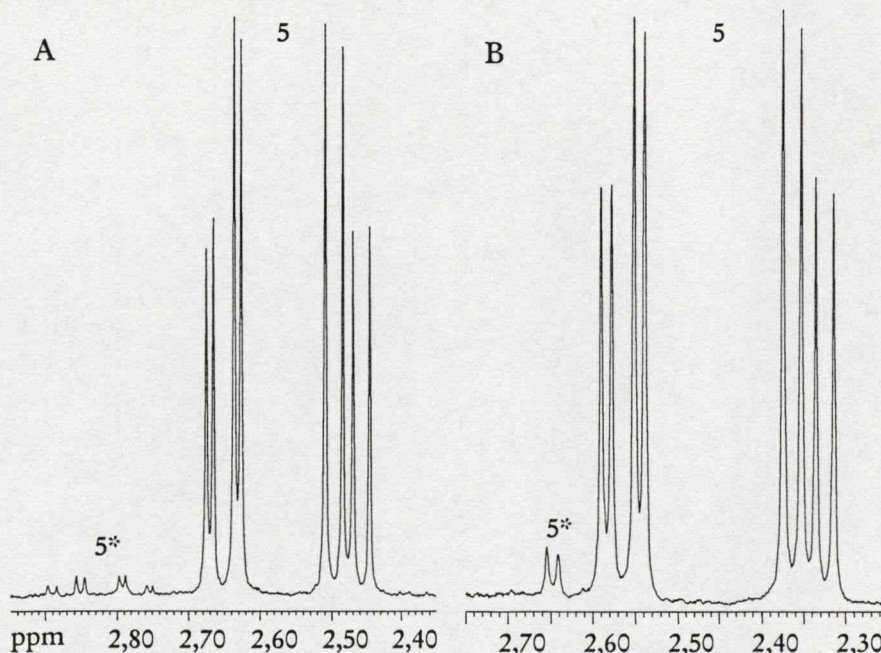
A kötött ligandum esetében az oldallánci $-\text{CH}_2-$ csoport hidrogénjeinek szelektív lecsatolásával (1060 Hz-en) felvett ^{13}C NMR-spektrumokon a nagyobb térnél levő karboxilátjel dublett, míg a kisebb térnél levő tripllett finomszerkezetű. Ez utóbbi tripllett felhasadású jel a terminális karboxilátszénhez rendelhető (csatolás a szomszédos $-\text{CH}_2-$ hidrogénekkel), s ezen a jelen a széles sávú protonlecsatolt ^{13}C NMR-spektrumokon az ónmaggal való kölcsönhatást jelző szatellit csúcsok is megfigyelhetők (62A. ábra). Előbbiek értelmében a magasabb térnél megjelenő vonal az oldallánci karboxilátszénhez tartozik, s azon csatolás nem látható. Az amidcsoport ónkoordinációját az amidszén jelen detektált erős, 34,5 Hz-es (62A. ábra) és az amidcsoporttal szomszédos $-\text{CH}_2-$ csoport jelen megfigyelhető 21,3 Hz-es csatolás (62B. ábra) bizonyítja. A fémionhoz kötődő metilcsoportok a Gly-Asp MLH₁ komplexéhez hasonlóan ezúttal is két jelet adnak, de a csoportok mágnesen inekvivalenciája nem annyira kifejezett. A fentebb bemutatott (23-25) egyenletek segítségével a metil-ón-metil szög 133° -nak adódik. A pH-metriás és NMR-

eredmények a Gly-Asp ligandumnál bemutatottakkal megegyező donorcsoportok koordinációját mutatják, ezúttal is trigonális bipiramisos geometriájú szerkezettel.



62. ábra: Az Asp-Gly-dimetil-ón(IV) 1,33:1 rendszerben, vizes közegben, 5,10-es pH-n mért ^{13}C NMR spektrum két tartománya (A,B). [Asp-Gly] = 0,15 M. (* : a komplexben kötött ligandum jelei)

Az eloszlásgörbékkel összhangban, pH~8 felett, mindkét dipeptid esetében a dimetil-ón(IV)kation hidrolízisének termékei válnak uralkodóvá az oldatokban, amit a 63. ábrán látható ^1H NMR-spektrumrészletek is alátámasztanak.



63. ábra: ^1H NMR-spektrumok részlete a Gly-Asp-dimetil-ón(IV) (A) és Asp-Gly-dimetil-ón(IV) (B) rendszerekben vizes közegben 9,88-as (A) és 9,83-as pH-n (B). [L] = 0,01 és [M] = 0,005 M. (* : a komplexben kötött ligandumok jelei)

NMR információk a Sal-Gly koordinációs módjáról az MLH₁ komplexben: A ¹H és ¹³C NMR-jelek hozzárendeléseit, a kémiai eltolódás értékeket és a meghatározott csatolási állandókat a 16-17. táblázatok foglalják össze. Fémion távollétében az amidhidrogén jele ~ 8-as pH-ig látható a spektrumokon, ami az oldószer protonjaival való csere viszonylagos lassúságának köszönhető. Ennek következtében a szomszédos alifás -CH₂- hidrogének jele dublett szerkezetű.

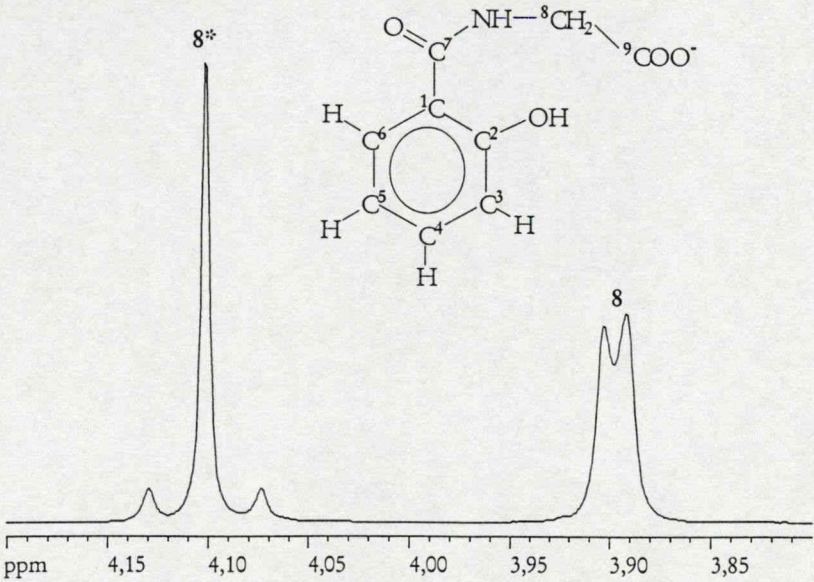
16. táblázat: A Sal-Gly vizes közegben, pH = 6,82-nél mért ¹H NMR kémiai eltolódás értékei (ppm) fémion jelen- és távollétében, valamint a meghatározott ¹H-^{117,119}Sn csatolási állandók (Hz, zárójelben). ([Sal-Gly] = 2×[dimetil-ón(IV)] = 0,01 M.

Komplex	δ ₈	δ _{NH}	³ J _{CH₂-NH}	³ J _{CH₂-Sn}	δ _{Sn(CH₃)₂}	² J _{119Sn-H}	² J _{117Sn-H}
MLH ₁	4,121 (s)	–	–	22,30 [#]	0,584	80,70	77,18
Szabad lig.	3,914 (d)	8,856 (sz)	5,28 ^{##}	–	0,647 ^{###}	82,46	79,23

Komplex	δ ₃	δ ₄	δ ₅	δ ₆	³ J ₃₋₄	⁴ J ₃₋₅	³ J ₄₋₅	⁴ J ₄₋₆	³ J ₅₋₆
MLH ₁	6,775 (dd)	7,319 (m)	6,854 (m)	7,785 (dd)	8,22	~0,9	7,33	1,76	7,92
Szabad lig.	6,950 (dd)	7,434 (m)	6,971 (m)	7,731 (dd)	8,22	~0,9	7,33	1,47	7,92

[#] Három kötésen keresztüli csatolás az ^{117,119}Sn maggal
^{##} Három kötésen keresztüli csatolás a lassú cseréjű amidhidrogénnel
^{###} Szabad kation a Sal-Gly-t és fémiont tartalmazó oldatokban
s: szingulett, d: dublett, dd: dublett dublettje, m: multipliett, sz: kiszélesedett

A semleges pH-n fémion jelenlétében felvett ¹H NMR-spektrumokon az új jelcsoportok és a szabad ligandum jeleinek intenzitásaránya nagyon jó egyezést mutat az eloszlásgörbe alapján megadható kötött/szabad ligandum aránnyal. A kötött ligandum jelei számottevően eltolódnak a szabad ligandum jeleihez képest (16. táblázat).



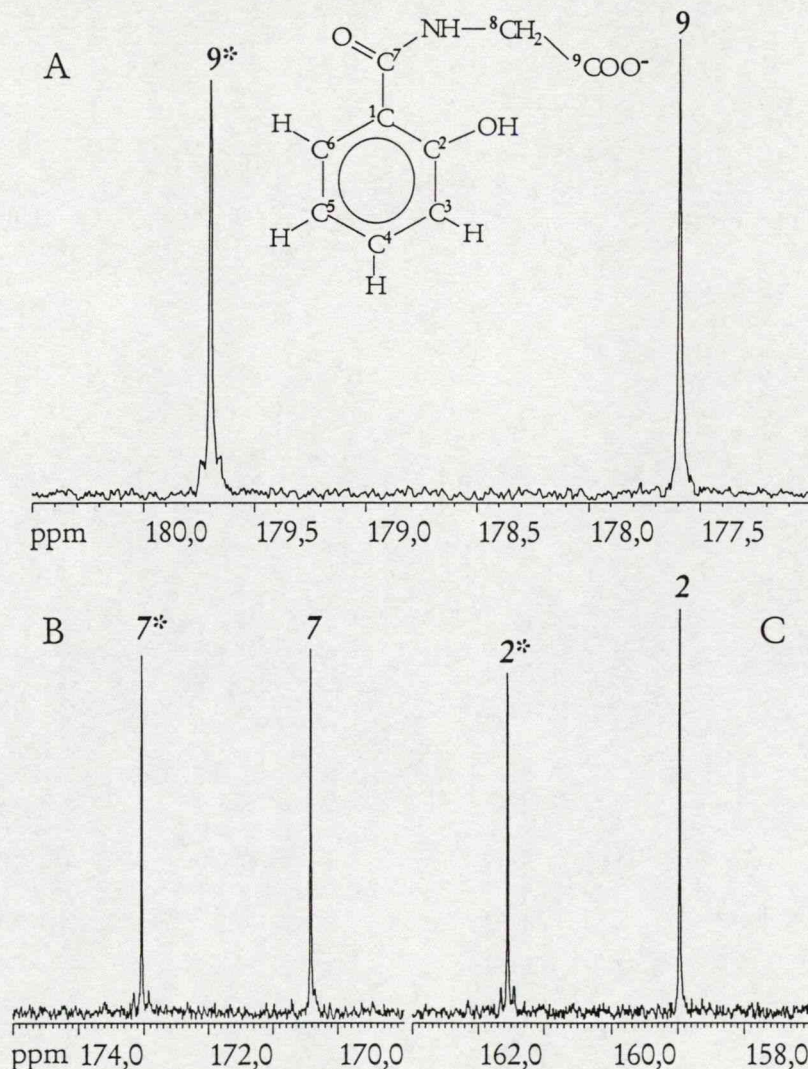
64. ábra: ¹H NMR-spektrum részlete a Sal-Gly-dimetil-ón(IV) 2:1 rendszerekben vizes közegben pH = 7,01-nél. [L] = 0,15 M. (*: a komplexben kötött ligandum jelei)

17. táblázat: A Sal-Gly-dimetil-ón(IV) 2:1 rendszerben, vizes közegben, pH = 7,01-nél mért ^{13}C NMR kémiai eltolódás értékek (ppm), valamint a meghatározott ^{13}C - $^{117,119}\text{Sn}$ csatolási állandók (Hz, zárójelben). ([Sal-Gly] = 2 × [dimetil-ón(IV)] = 0,15 M)

Komplex	δ_1	δ_2	δ_7	δ_8	δ_9	Aromás szenek (3–6)	$\delta_{\text{Sn}(\text{CH}_3)_2}$
MLH ₁	122,94 (12,1)	161,55 (19,8)	173,04 (22,7)	47,96 (21,3)	179,70 (~8,8)	134,13, 131,44 121,76, 119,35	-0,84 (667,2, 637,9)*
Szabad lig.	117,16	158,97	170,42	44,45	177,59	134,99, 129,34 120,59, 118,32	3,39

* Egy kötésen keresztüli csatolás az Sn(119,117 tömegszámú) izotópjaival

Az amidhidrogén jele fémion távollétében triplét finomszerkezetű pH 4 környékén, és semleges pH-n kiszélesedik ($\Delta\nu_{1/2} = 22$ Hz). Az MLH₁ komplexben azonban az amidproton jele nem jelentkezik. Ugyanakkor a szomszédos $-\text{CH}_2-$ protonok szingulett szerkezetűek, és az ónmaggal való skalár csatolásuk eredményeként szatellit csúcsok is detektálhatók (64. ábra).



65. ábra: A Sal-Gly-dimetil-ón(IV) 2:1 rendszerben, vizes közegben, pH = 7,01-nél mért ^{13}C NMR-spektrum három tartománya (A,B,C). [Sal-Gly] = 0,15 M. (* : a komplexben kötött ligandum jelei)

Ezen észlelések arra utalnak, hogy az amidcsoport deprotonálódott a komplexben, s nitrogénje a fémionhoz koordinálódik. A korábban bemutatott összefüggések segítségével a metilcsoportok által bezárt szög $132\text{--}140^\circ$ -nak adódik, mely ekvatoriális helyzetű metilcsoportokra utal a trigonális bipiramisos szerkezetben.

^{13}C NMR-mérések további információkat nyújtanak a lassú ligandumcseréjű MLH_1 komplex szerkezetéről. A különböző szénmagok jeleinek jelentős kémiai eltolódásváltozása a szabad ligandumhoz képest, valamint számos detektált $^{13}\text{C}\text{--}^{117,119}\text{Sn}$ csatolás a koordinálódó donorcsoportok minőségéről ad felvilágosítást. A karboxilátcsoport koordinálódására a kötött ligandum jelen jelentkező 8-9 Hz-es csatolás utal (65A. ábra). Az ón maggal való csatolás mind a karbonilszénen (65B. ábra), mind az alifás $\text{--CH}_2\text{--}$ jelen látható, mely a ^1H NMR-eredményekkel összhangban az amidkoordinációt mutatja. A deprotonálódott fenolos hidroxilcsoport koordinációját az aromás gyűrű C2 szénén megfigyelhető 20 Hz-es $^2J(^{13}\text{C}\text{--}^{117,119}\text{Sn})$ csatolás jelzi (65C. ábra). A hosszú relaxációs idejű C1 szén jelének jelentős eltolódása az alacsonyabb terek felé, valamint a detektált 12 Hz-es négy kötésen keresztüli csatolás az ónmaggal ($\text{Sn}\text{--}\text{N}^-\text{C7}\text{--}\text{C1}$ és/vagy $\text{Sn}\text{--}\text{O}^-\text{C2}\text{--}\text{C1}$ kötésekén keresztül) ugyancsak a Sal-Gly eddig vázolt koordinációs módját támasztja alá.

A ^1H és ^{13}C NMR-eredmények tehát azt bizonyítják, hogy a Sal-Gly ligandum a lassú ligandumcseréjű MLH_1 komplexben $\{\text{O}^-\text{N}^-\text{COO}^-\}$ donorcsoportokkal trigonális bipiramisos geometriában koordinálódik a dimetil-ón(IV)kationhoz, melyben a két metilcsoport ekvatoriális helyzetű, s az általuk bezárt szög $132\text{--}140^\circ$.

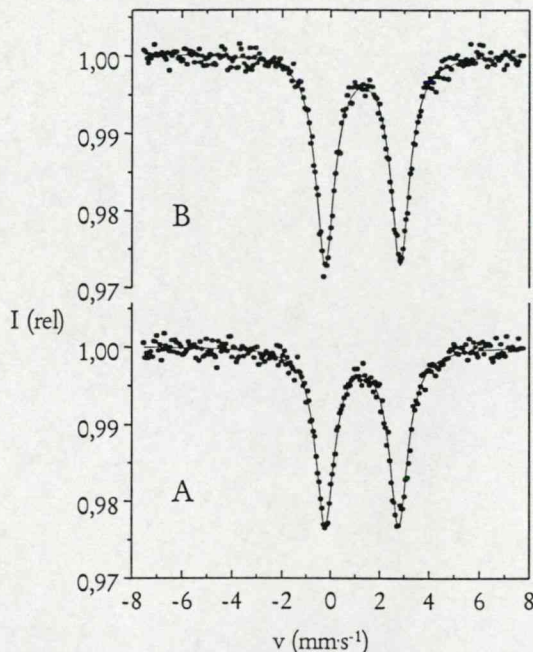
Mössbauer-spektroszkópiás vizsgálatok a Gly-Asp-dimetil-ón(IV), Asp-Gly-dimetil-ón(IV) és Sal-Gly-dimetil-ón(IV) rendszerekben: A folyékony nitrogén hőmérsékletén, a ^{13}C NMR-mérésekhez hasonló koncentrációjú gyorsfagyasztott oldatokban felvett Mössbauer-spektrumok értékelése tovább erősíti az MLH_1 komplexre NMR-eredményekkel meghatározott szerkezetet. A a három tárgyalt rendszerben az MLH_1 részecske 100 %-os jelenlétének megfelelő pH-n felvett Mössbauer-spektrumok paraméterei a 18. táblázatban láthatók. A két dipeptidre vonatkozó paraméterek rendkívül hasonlóak (spektrumok a 66. ábrán), mely alátámasztja azok megegyező szerkezetét. A meghatározott Δ_{exp} értékek csaknem azonosak a Gly-His komplexére semleges pH-n mért értékkel⁶⁵, és hasonlóak, mint a Gly-Gly-re meghatározott paraméterek^{65,70}.

18. táblázat: Mért és számolt Mössbauer-paraméterek a dimetil-ón(IV)-Gly-Asp, Asp-Gly ill. Sal-Gly rendszerekben képződő MLH_1 komplexekre.

Paraméterek	Gly-Asp	Asp-Gly	Sal-Gly
d ($\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$)	1,29	1,31	1,23
Δ_{exp} ($\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$)	3,00	3,06	2,82
Γ ($\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$)	0,92	0,93	0,82
Δ_{calc} ($\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$)	2,78	2,78	2,82

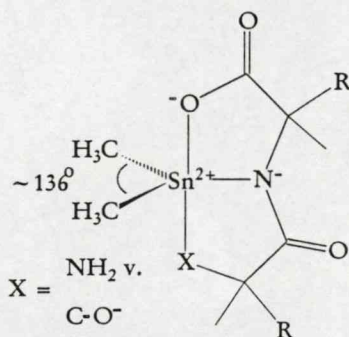
A Sal-Gly MLH_1 komplexére ideális trigonális bipiramisos szerkezet feltételezésével a PQS (parciális kvadrupólusfelhasadás) elmélet alapján számolható Δ_{calc} adat $2,41\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$, amely jelentősen különbözik a mért értéktől (18. táblázat). Azonban az elméleti kvadrupólusfelhasadás nagymértékben függ a számolás során figyelembevett geometria torzulástól, különösen az

ekvatoriális helyzetű alkilszubsztituensek által bezárt szögtől. Az NMR-adatok alapján ez a szög a Sal-Gly komplexe esetében $\sim 130\text{--}140^\circ$, amely révén a megadható Δ_{calc} intervallum $2,78\text{--}3,15 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ¹⁶⁰. A mért Δ_{exp} érték ebbe a tartományba esik (131° esetében $\Delta_{\text{calc}} = 2,82 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$). A Mössbauer-spektroszkópiás mérések eredményei tehát mindhárom ligandum esetében összhangban vannak az NMR-mérések alapján megadott komplexszerkezettel.



66. ábra: A dimetil-ön(IV)-Gly-Asp (A) és Asp-Gly (B) rendszerekben képződő MLH_{-1} komplexek "gyorsfagyasztott" Mössbauer-spektrumai. ($\text{pH} = 7,2$, $[\text{L}] = 2 \times [\text{M}] = 0,2 \text{ M}$)

Következtetések: A tanulmányozott ligandumok dimetil-ön(IV)ionnal való kölcsönhatása során semleges pH-tartományban viszonylag inert, MLH_{-1} összetételű komplexek képződnek, melyben deprotonálódott amidnitrogén is koordinálódik a fémionhoz. A komplexek szerkezete trigonális bipiramis, melyben a két metilcsoport ekvatoriális pozíciókat foglal el (67. ábra).



67. ábra: A semleges pH-n képződő MLH_{-1} komplexek általános szerkezete

A 19. táblázat néhány korábban tanulmányozott ligandummal együtt összeveti a dimetil-ön(IV)kation-indukálta amiddeprotonálódás pK -értékeit a réz(II)ion esetében meghatározott állandókkal. Az összehasonlítás jól tükrözi, hogy míg a réz(II)ionnál ezek az értékek ligandumtól függően mintegy 3 logaritmus egységnyi tartományban vannak, addig a dimetil-ön(IV)-re meghatározott pK -k jóval szűkebb, $0,82$ egységnyi intervallumba esnek. Ez arra utal, hogy amíg a réz(II) esetében az N-terminális donorcsoport minősége alapvetően meghatározza a folyamat

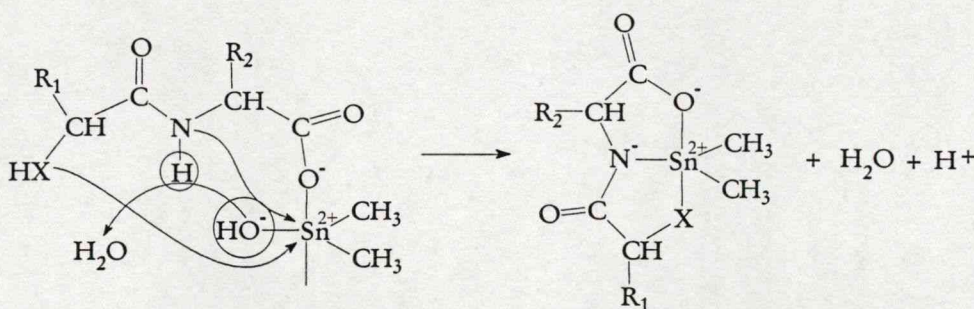
pK-értékét, addig a dimetil-ón(IV)-nél a karboxilát horgony szerepe a meghatározó, s az N-terminális vagy oldallánci csoportok milyensége jóval kevésbé fontos. Ez összhangban van a Gly-Hist és Gly-His esetén tapasztalt alapvető különbséggel⁶⁵.

19. táblázat: A réz(II)- és dimetil-ón(IV)ionok által indukált amid-deprotonálódásra vonatkozó pK-értékek különböző peptid típusú ligandumokban

Ligandum	réz(II) ^a	dimetil-ón(IV)
Gly-Gly	3,99	4,81 ^b
Asp-Gly	4,87	4,77
Gly-His	4,15	4,68 ^b
Gly-Hist	3,20	– ^c
Glükonil-glicin	5,76	4,46 ^d
Glükonil-alanin	5,85	4,25 ^d
Glükonil-metionin	5,63	4,55 ^d
Sal-Gly	4,40	4,39

^a161. számú hivatkozás. ^b65. számú hivatkozás. ^c65. számú hivatkozás - nincs amiddeprotonálódás.

^d162. számú hivatkozás.



68. ábra: A dimetil-ón(IV)-indukálta peptidnitrogén deprotonálódás speciális mechanizmusa

Az MLH₁ komplex képződésére olyan összetett folyamatok vezetnek (68. ábra), melyben a karboxilátcsoport először horgonyként kapcsolódik a fémionhoz, majd ez elősegíti az amidcsoport és az aminocsoport (vagy fenolos hidroxilcsoport) kooperatív jellegű deprotonálódását és koordinálódását, miközben egy vízmolekula távozik a koordinációs szférából. A lassú ligandumcseréjű komplexekben a ligandum kötődésének erősségét az elsősorban elektrosztatikus jellegű Sn²⁺-OOC illetve a főként kovalens karakterű Sn-N⁻ kötések szabályozzák, míg a másik terminális donorcsoport (pl. amino- vagy fenolátcsoport) szerepe kevésbé meghatározó.

5.2. Kinetikai vizsgálatok

Az 5.1. fejezetben bemutatott rendszerek többségében kinetikai vizsgálatokat is végeztünk, melyek célja a képződő komplexek különböző típusú foszfátészter-kötésekre gyakorolt hidrolitikus aktivitásának tanulmányozása volt. Az eredmények tárgyalásánál az egyensúlyi és oldatszerkezeti vizsgálatoknál alkalmazott csoportosítást használom. Az 5.2.4. fejezetben a tdc

ligandum komplexeivel kapcsolatos kinetikai vizsgálatok kerülnek bemutatásra, melyek azonban szorosan kapcsolódnak kutatócsoportunk korábbi, egyensúlyi és szerkezeti eredményeihez.

5.2.1. A dimetil-ón(IV)ion és a foszfátészter-hidrolízis

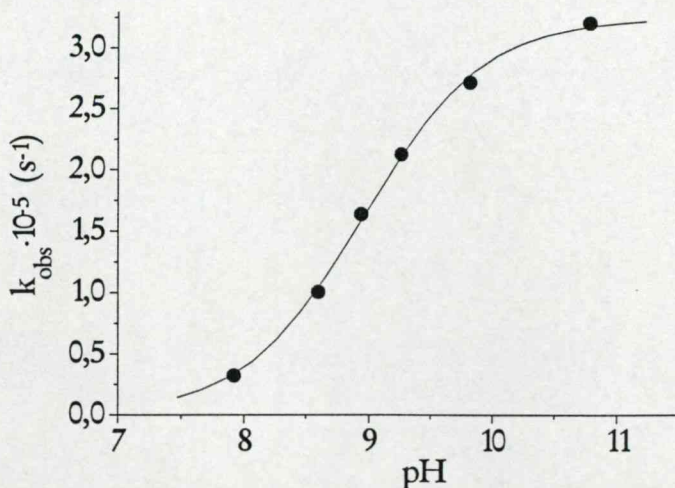
A dimetil-ón(IV)kation (és egyéb ónorganikus kationok is) erős Lewis-sav karaktere alapján hatékonyan segítheti a foszfátészter-kötés hasítását. Modellvizsgálatok révén próbáltunk meggyőződni arról, hogy ezek a fémionok valóban gyorsítják-e aktivált foszfátészterek hidrolízisét. Vizsgálataink azonban negatív eredménnyel zárultak, melynek különböző okai lehetnek. A dimetil-ón(IV)ion hidrolízise során széles pH-tartományban uralkodó $M(OH)_2$ összetételű hidroxokomplex tetraéderes szerkezetének nagy stabilitása miatt nem alkalmas a folyamat elősegítésére. A savasabb körülmények között képződő monohidroxo részecske ($M(OH)$) esetében ez nem okoz gondot. Ugyanakkor a vizsgálatát nagyon megnehezíti az a tény, hogy a rendelkezésre álló, és általánosan alkalmazott 4-nitrofenil-foszfátészterek távozó csoportjának (4-nitrofenolát) pK -ja kívül esik a monokomplex képződésének tartományán. Ez a folyamat követését lehetetlenné teszi. A 2,4-dinitrofenil-etil-foszfát szubsztrátot alacsony pK -ja ($pK=4,0$) alkalmassá teszi az $M(OH)$ komplex hidrolitikus aktivitásának tanulmányozására, azonban vizsgálataink nem voltak sikeresek. Figyelembe véve a dimetil-ón(IV)ion "hard" karakterét (oxigéndonor ligandumokat kedvel), valamint a szabad koordinációs helyek korlátozott számát, a dimetil-ón(IV)komplexeiktől sem várható, hogy jelentősen elősegítsék foszfátészterek hidrolízisét.

5.2.2. Hidrolitikus mérések imidazol- és piridinyűrű mellett aminocsoportot tartalmazó ligandumok átmenetifém-komplexeivel

Mint arról az irodalmi bevezetőben már volt szó, számos metalloenzim aktív centrumában kizárólag hisztidin-imidazolnitrogének koordinálják az adott fémiont. Ezt figyelembe véve a három illetve négy imidazol egységből álló TRIM és TIM ligandumok fémkomplexei kiváló szerkezeti modelljei ezen enzimek aktív centrumának, és joggal reméltük, hogy a foszfátészter-kötés hidrolízisét is megfelelően modellezhetjük velük. Azonban egyensúlyi vizsgálataink során a törzskomplexek képződését követően csapadék leválását tapasztaltuk minden rendszerben, azaz hidroxo-vegyesligandumú komplexek vagy nem képződnek, vagy azok nem vízzoldhatóak. Emiatt hidrolitikus vizsgálatokat a TRIM és TIM ligandumok komplexeivel nem tudtunk végezni.

A pyrdiam-réz(II) rendszerben 1:1 fém ligandum arány esetén a CuL komplex képződését $CuLH_1$ összetételű hidroxo-vegyesligandumú komplex kialakulása követi (38. ábra). Az ekvimoláris összetételű oldatban tanulmányoztuk az említett komplex képződésének hatását a 2-hidroxipropil-4-nitrofenil-foszfát (hnp) hidrolízisére. pH-függő kinetikai méréseket végeztünk a 7,5–11 pH-tartományban, melyek eredményét a 69. ábra mutatja be. Az autohidrolízissel korrigált pszeudo elsőrendű sebességi együtthatókra (k_{obs}) illeszthető görbe szigmoidális jellegű, és összhangban van a $CuLH_1$ komplex képződésével. A kinetikai pH-profilból meghatározható pK ($=8,96$) jó egyezést mutat a pH-metriás titrálások alapján meghatározott értékkel ($=8,87$). Az autohidrolízishez képest mért sebességnövekedés ~ 1 millimólos réz(II)ion-koncentráció mellett, 9,8-as pH-n $\sim 4,3$ -szoros, ami – mint azt a dolgozat a későbbiekben tárgyalja – messze elmarad a tanulmányozott kétmagvú komplexek esetében mért sebességnövekedéstől. A pH-függés utolsó pontja alapján a komplex koncentrációjával történő osztás révén kiszámítható másodrendű

sebességi együttható ($\sim 0,034 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) körülbelül a fele a hidroxidion által katalizált folyamat k_2 értékének. A feltételezett mechanizmus hasonló a későbbiekben részletesen tárgyalta khoz (bimido és bpdpo komplexei). A komplex szerény aktivitása miatt kiterjedtebb vizsgálatokat a rendszerben nem végeztünk.



69. ábra: Autohidrolízissal korrigált pszeudo elsőrendű állandók pH-függése a pyridin-réz(II)-hnp 1 : 1 : 1 rendszerben ($[\text{Cu}^{2+}] = 9,40 \cdot 10^{-4} \text{ M}$)

Az imhm ligandumot és réz(II)iont tartalmazó oldatokban pH 8 felett a fémionra nézve egy ekvivalens extra lúgfogyást tapasztaltunk pH-metriás méréseink során (33. ábra). Ezt a folyamatot a pH-metriás adatok és a spektroszkópiás eredmények alapján kétmagvú, μ -dihidroxo-hidas $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-2}$ összetételű komplex képződéseként értelmeztük (5.1.2. fejezet). A fémionok telített koordinációs szférája miatt nem várható jelentős hidrolitikus aktivitás ezen részecskétől, melyet a BNPP szubsztráttal végzett pH-függő kinetikai méréseink is megerősítenek. A mért pszeudo elsőrendű sebességi együtthatókra lapos maximumgörbe illeszthető ($\text{pH}(\text{max}) \sim 8,5$). Az eloszlásgörbe alapján a mért aktivitás egyik komponenshez sem rendelhető hozzá. A hidrolitikus aktivitást kétféle részecske kis mennyiségű jelenléte okozhatja: a dihidroxohidas dimert megelőző $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-1}$ komplex, vagy a dimer CuLH_{-1} összetételű monomer formája. Igazolni azonban ezen komplexek jelenlétét nem tudtuk, ezért részletesebb kinetikai méréseket nem végeztünk az imhm ligandummal.

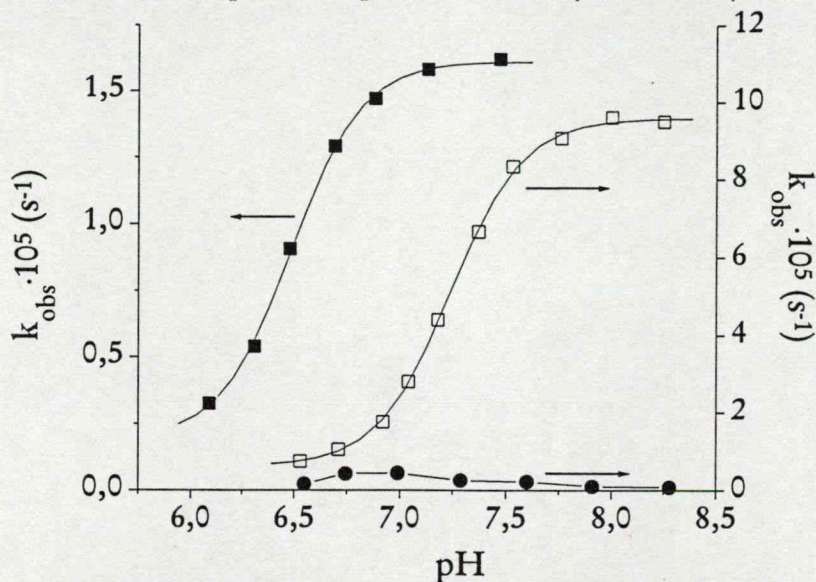
5.2.3. 1,3-diamino-2-propanol egységet tartalmazó ligandumok átmenetifém-komplexeinek hatása aktivált és nemaktivált foszfátészterek hidrolízisére

Az irodalmi áttekintés részletesen taglalja a kétmagvú komplexek előnyeit a hidrolitikus folyamatok során. Az 5.1.3. fejezet olyan ligandumokkal (illetve réz(II)- és cink(II)komplexeikkel) foglalkozik, melyek szerkezetükből fakadóan egy vagy két fémion megkötésére is képesek. Az említett fejezet bemutatja a különböző rendszerekben képződő komplexek pH-függő eloszlását és szerkezetét, kiemelten kezelve a kétmagvú komplexeket.

Az RNS hidrolízise kétlépéses folyamat (7. ábra): az első lépés egy ciklikus-foszfátészter képződésével járó átészterelési reakció, míg a második lépés az így kialakuló gyűrűnek a felnyílása. A rendszerek hidrolitikus aktivitását mindkét részlépésre teszteltük, így vizsgáltuk a hnp átészterelésére valamint a 2'3'-cUMP hidrolízisére gyakorolt hatásukat (mechanizmus: 21. ábra). A teljes folyamat modellezésére az UpU szubsztrátot használtuk.

Kinetikai mérések a bimido-réz(II) rendszerben: A részletes kinetikai vizsgálatokat a 3.1.2. fejezetben részletezett oldhatósági problémák gátolták. A háttéreletritolt nem tartalmazó 2:1 fém-ligandum arányú oldatokban pH-függő méréseket végeztünk mind hpnp, mind 2'3'-cUMP szubsztrátok alkalmazásával. Amint azt a 71. (illetve 76.) ábra tanúsítja, a függvények szigmoidális jellegűek, a mért sebességi együtthatók pH 6–7,5 tartományban növekednek, párhuzamosan a Cu_2LH_2 összetételű komplex kialakulásával (lásd spektrofotometriás titrálás, 43. ábra), amely a kétmagvú komplexnek a folyamatban betöltött szerepét tükrözi, hasonlóan a következőkben tárgyalt bimido-cink(II) rendszerhez.

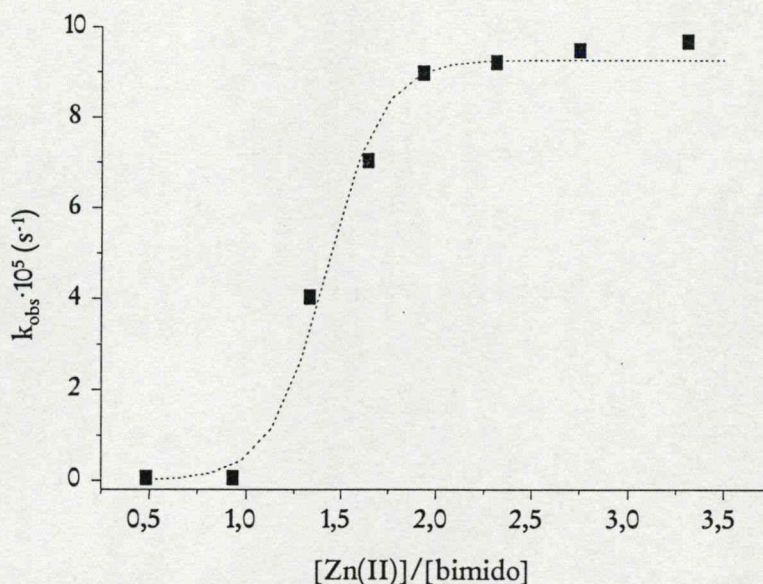
Kinetikai mérések a bimido-cink(II) rendszerben hpnp alkalmazásával: A hpnp átészterelési folyamatára mért pH-függés (2:1 fém-ligandum arány) szigmoidális jellegű. A 6,5–8 pH-értékek között növekvő aktivitás (70. ábra) összhangban van a 2:1 fém-ligandum arányú oldatokban ezen tartományban tapasztalt deprotonálódási folyamatokkal (48. ábra).



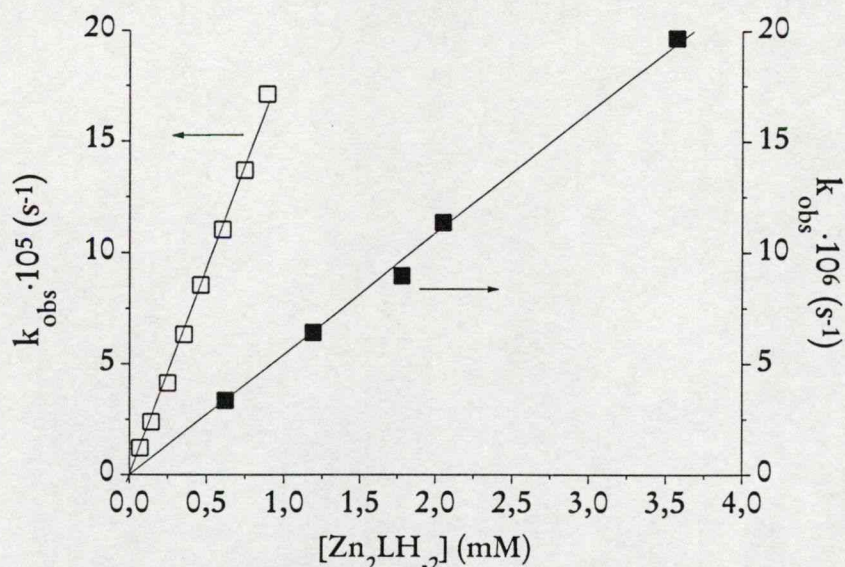
70. ábra: Sebességi együtthatók pH-függése a hpnp átészterestése során (puffer: 0,02 M MES vagy HEPES)
 (■) bimido-réz(II), $[L] = 0,51 \cdot [M] = 5,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $[S] = 5,4 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
 (□) bimido-cink(II), $[L] = 0,52 \cdot [M] = 5,6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, 65 tömeg% EtOH/víz, $I = 0,05 \text{ M}$,
 $T = 298 \text{ K}$, $[S] = 5,4 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
 (●) cink(II), $[M] = 3,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, 65 tömeg% EtOH/víz, $I = 0,05 \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $[S] = 9,8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

A mért pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók maximumot érnek el pH 8–8,8 között, majd a pH további növelésével párhuzamosan csökkennek (az ábrán nem látható). A kinetikai adatokból meghatározható inflexiós pont (pH=7,24) megfelelő egyezést mutat a pH-metriás eredményekkel. Összehasonlítási célból megvizsgáltuk a bimido mentes cink(II)ionokat tartalmazó oldat aktivitását is (70. ábra). A pH 7 felett képződő $\text{Zn}(\text{OH})_2$ csapadék miatt a mért sebességi együtthatók bizonytalansága nagy. Mindazonáltal a szabad cink(II)ionok által indukált sebességnövekedés egyértelműen elhanyagolható a komplexéhez képest. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a megfigyelt hidrolitikus hatás a Zn_2LH_2 részecskéhez köthető. A hpnp autohidrolízisének sebessége 8-as pH-n viszonylag lassú ($k_{\text{obs,uncat}} = 1,3 \cdot 10^{-7} \text{ s}^{-1}$, $t_{1/2} = 62 \text{ nap}$). Ehhez képest 0,54 mM koncentrációjú Zn_2LH_2 komplex jelenlétében ugyanezen pH-n a félélettartam 2 órára csökken. A szubsztrát háromszoros feleslege esetén három katalitikus ciklust mértünk az aktivitás számottevő csökkenése nélkül ($[\text{komplex}] = 0,5 \text{ mM}$). A 71. ábra a pszeudo

elsőrendű sebességi együtthatók változását mutatja be állandó ligandumkoncentráció és változó fém-ligandum arány mellett ~ 8 -as pH-n. A mért aktivitás 1:1 arányig elhanyagolható, majd a fémkoncentráció további növelésével meredeken emelkedik és 2:1 arány fölött tetőzik. (Nagyobb fémfelesleg esetén már csapadék leválása is megfigyelhető.) A fém-ligandum arány függés további bizonyítékot jelent a Zn_2LH_2 részecske aktivitására.



71. ábra: A pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók fém-ligandum aránytól való függése a *hnp*p átészterésítése során a bimido–cink(II) rendszerben, 7,98-as pH-n ($[\text{bimido}] = 5,6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, állandó)

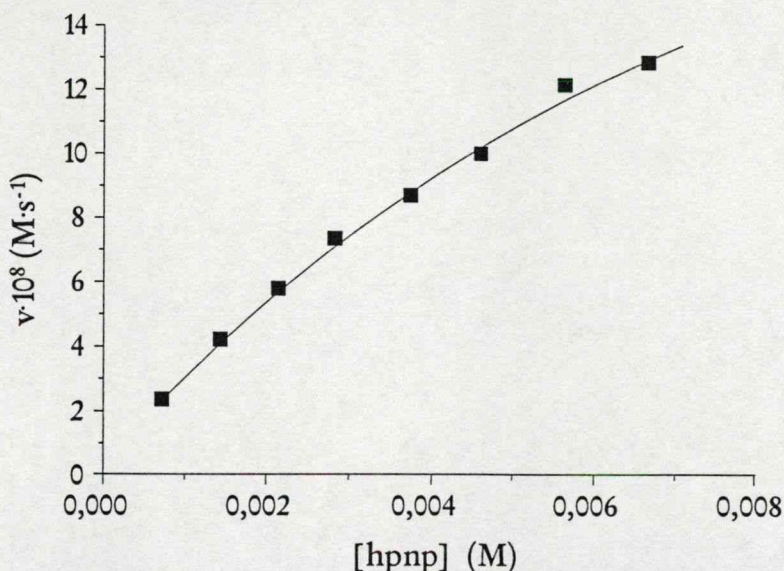


72. ábra: A pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók $[\text{Zn}_2\text{LH}_2]$ koncentrációtól való függése 7,98-as pH-n (\square) *hpnp* szubsztrát, $[\text{L}] = 0,52 [\text{M}]$, 65 tömeg% EtOH/víz, $I = 0,05 \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $[\text{S}] = 5,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (\blacksquare) *cUMP* szubsztrát, $[\text{L}] = 0,52 [\text{M}]$, 65 tömeg% EtOH/víz, $I = 0,05 \text{ M}$, $T = 310 \text{ K}$, $[\text{S}] = 50 \mu\text{M}$)

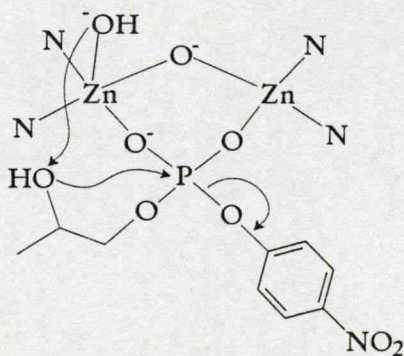
Állandó fém-ligandum arány mellett ~ 8 -as pH-n az átészterésítés sebességére mért együtthatók lineárisan függenek a komplexkoncentrációtól $0,2 \text{ mM} < [\text{Zn(II)}] < 2,0 \text{ mM}$ tartományban. A 72. ábrán bemutatott pontsorra illeszthető egyenes meredekségéből meghatározott másodrendű sebességi együttható $0,186 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, amely érték 2,5-szerese a

hidroxidion-katalizált folyamat másodrendű együtthatójának ($k_{2,\text{OH}} = 0,0745 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). (A hidroxidionra vonatkozó értéket 8,8–10,9 pH-tartományban végzett mérésekből vizes közegben határoztuk meg, ugyanis 65 tömeg%-os EtOH/víz elegyben CAPS puffer jelenlétében csapadék leválását észleltük.)

Az átészterésítés sebességének szubsztrátkoncentrációtól való függését ugyancsak megvizsgáltuk (73. ábra). Nagyobb hpnp koncentrációknál telítési jellegű görbét mértünk. Eszerint joggal feltételezhető, hogy az átészterésítés egy komplex-szubsztrát adduktum kialakulására vezető előegyensúlyon keresztül játszódik le. Az adatokból nemlineáris paraméterillesztéssel meghatározható a Michaelis-Menten együttható ($K_M = 9,1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$), melynek reciproka (kellően kicsi k_{cat} esetén) az előegyensúlyt jellemző asszociációs állandó ($K_{\text{ass}} = 110 \text{ M}^{-1}$) illetve kiszámolható a katalitikus sebességi együttható is ($k_{\text{cat}} = 1,52 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$). Ezen értékek a hpnp szubsztrát viszonylag szerény affinitását mutatják a Zn_2LH_2 komplexhez, ugyanakkor a komplex jelentős katalitikus aktivitását jelzik. A megadott k_{cat} együttható a bimido tárgyalt komplexét a legaktívabb kétmagvú cink(II)komplexek közé helyezi.



73. ábra: A kezdeti sebesség (v) hpnp-koncentrációtól való függése a bimido–cink(II) rendszerben ($\text{pH} = 7,98$, $[L] = 0,52$, $[M] = 2,1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, 65 tömeg% EtOH/víz, $I = 0,05 \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$)

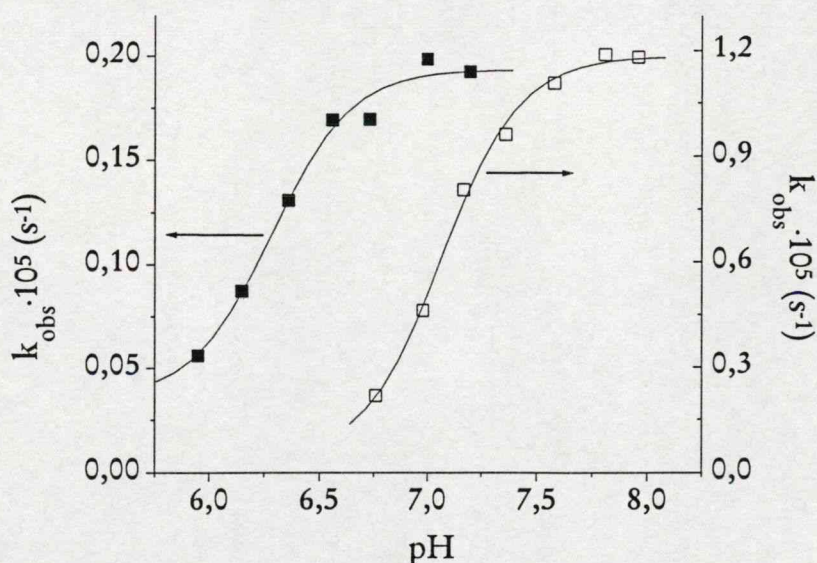


74. ábra: Az alkoholáthidas $\text{Zn}_2\text{LH}_{-1}(\text{OH})$ komplex által elősegített hpnp átészterésítési folyamat javasolt mechanizmusa

Fentebbi mérési eredmények és a 3.1.2. fejezetben bemutatott kétmagvú bimido komplex egykristály-röntgenszerkezete (45. ábra) az átészterésítés mechanizmusára vonatkozó

információkat is szolgáltatnak. A sebességi együtthatók pH-függése a kétmagvú komplex képződésével párhuzamosan 8–8,8 pH-tartományban mutat maximumot. Korábbi vizsgálatok azt mutatták, hogy modellvegyületekben rendszerint nem a hídtípusú kötésben levő alkoholátcsoport a nukleofil reaktáns^{101,102,117,118}. Ez azt jelenti, hogy az általános bázis típusú katalízist, a szubsztrát 2'-OH csoportjának aktiválását, nagy valószínűséggel a fémionhoz kötött hidroxidion végzi. Azonban a komplexre vonatkozó másodrendű sebességi együttható 2,5-szer nagyobb, mint k_{2,OH^-} . Ez kétfunkciós átészterezési mechanizmust sejtet (74. ábra), ugyanis a fémionhoz kötött hidroxidion nukleofil karaktere egyértelműen gyengébb, mint a szabad hidroxidioné. Ennek értelmében a folyamatban a fémionok által kifejtett Lewis-sav aktiválást, azaz a foszfátkoordinációt is figyelembe kell venni. A kétmagvú komplex kristályszerkezete alapján (45. ábra) mindez a szubsztrát μ -1,3-hidas kötődése révén valósulhat meg. A legtöbb eddig ismert aktív kétmagvú komplex esetében a kettős Lewis-sav aktiválás a folyamad "kulcsa"^{101,102,118,163,164}. A kétmagvú komplex két protonálódási izomerjének állandó aránya miatt nincs lehetőség az egyedi aktivitásuk meghatározására. Az irodalomban közölt eredmények áttekintése azonban azt sejteti, hogy a merevebb, rögzített pozíciójú fémionokat tartalmazó kétmagvú egységek nagyobb hidrolitikus aktivitással bírnak, mint a flexibilisebb kétmagvú komplexek^{101,102,165}. Ez az alkoholáthidas $\text{Zn}_2\text{LH}_1(\text{OH})$ izomer domináns szerepét sugallja a hidrolitikus folyamatban.

Kinetikai mérések a bimido-cink(II) rendszerben cUMP alkalmazásával: Az RNS hidrolízis második lépésének modellezéséhez 2'3'-cUMP szubsztrátot alkalmaztunk, amely közvetlen analógiát jelent a természetes folyamattal.



75. ábra: A sebességi együtthatók pH-függése a cUMP hidrolízise során (puffer: 0,02 M MES vagy HEPES)

(■) bimido-réz(II), $[L] = 0,51 [M] = 5,1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $T = 310 \text{ K}$, $[S] = 50 \mu\text{M}$

(□) bimido-cink(II), $[L] = 0,52 [M] = 2,1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, 65 tömeg% EtOH/víz, $I = 0,05 \text{ M}$,
 $T = 310 \text{ K}$, $[S] = 50 \mu\text{M}$

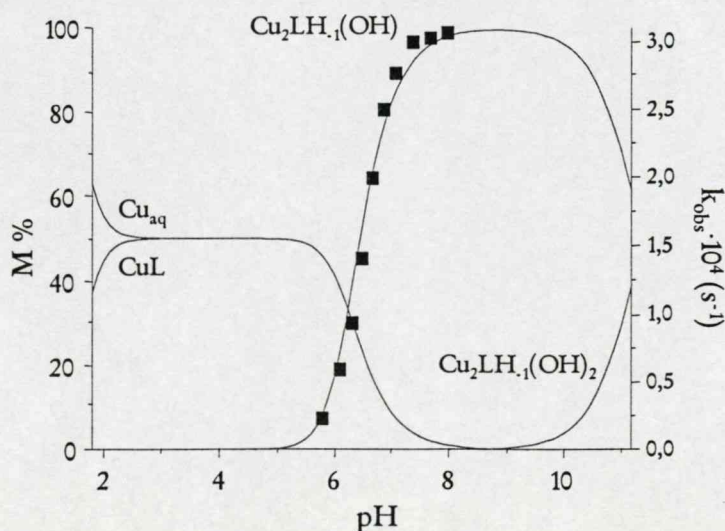
A sebességi együtthatók pH-függése a hpnp-nél tapasztalhoz hasonlóan szigmoidális jellegű (75. ábra). A függvény inflexiós pontja valamivel kisebb pH-nál van ($=7,06$), melynek oka egyrészt a nagyobb alkalmazott fémion-koncentráció, másrészt a magasabb hőmérséklet ($T=310 \text{ K}$). A cUMP fémkomplex távollétében rendkívül stabil, a hidroxidion-katalizált hidrolízisére vonatkozó másodrendű sebességi együttható 310 K-en $\sim 6,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ¹⁶⁶. Ezen állandó alapján

a 8-as pH-ra visszazámolható sebességi együttható ($k_{\text{obs,uncat}} \sim 1 \cdot 10^{-9} \text{ s}^{-1}$) és a szubsztrát felezési ideje ~ 11 -12 év. A kétmagvú cink(II)komplex jelenlétében (3,6 mM) a 2'3'-cUMP felezési ideje 10 órára csökken 8-as pH-n, amely $1 \cdot 10^4$ szerez sebességnövekedést jelent. A kétmagvú komplex aktivitását teszteltük egy dinukleotiddal szemben is (UpU). A kétmagvú komplex jelenlétében (4 mM) 310 K-en ~ 5 %-os konverziót mértünk három nap elteltével. Azaz a reakciót gyorsítja a bimido cink(II)komplexe, de a sebesség túl kicsi a pontos mérésekhez.

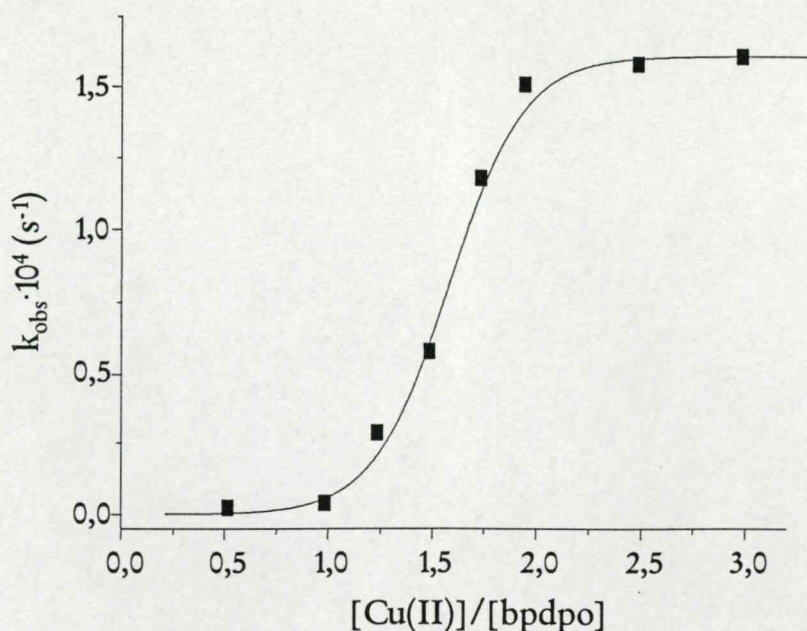
A pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók lineáris koncentrációfüggést mutatnak a vizsgált $1,2 \text{ mM} < [\text{Zn(II)}] < 7,2 \text{ mM}$ koncentrációtartományban (72. ábra). A komplexre vonatkozó másodrendű együttható $5,4 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, amely megközelíti a szabad hidroxidion k_2 értékét.

Az aktív komplex nem azonos mértékben gyorsítja a cUMP és UpU hidrolízisét. A szubsztrátok autohidrolízisére vonatkoztatott sebességnövekedés 10–15-ször nagyobb cUMP esetében. Ez a különbség nem olyan jelentős, melynek alapján feltételeznünk kellene, hogy a fémionhoz kötött hidroxidion hajtja végre a nukleofil támadást a foszforatomon (direkt nukleofil katalízis). Ennek értelmében a folyamat mechanizmusa valószínűleg hasonló a hpnp-nél tárgyalthoz (75. ábra), azaz a fémionhoz kötött hidroxidion általános bázisként elősegíti a támadást végrehajtó vízmolekula deprotonálódását. Végezetül feltétlenül megemlítendő, hogy a kétmagvú cink(II)komplex aktivitása hpnp esetében több, mint ötszöröse, és a cUMP-re vonatkozólag is mintegy másfélszerese a kétmagvú réz(II)komplexének. Ez, figyelembe véve a réz(II) erősebb Lewis-sav karakterét, mindenképpen érdekes jelenség, magyarázatához azonban nem áll rendelkezésünkre elegendő információ.

Kinetikai mérések a bpdpo-réz(II) rendszerben hpnp alkalmazásával: Az ekvimoláris bpdpo-réz(II)-oldat pH 6–11 tartományban nem segíti elő a hpnp átészterítését. Kétszeres fémionfelesleg esetén azonban a kétmagvú Cu_2LH_2 komplex képződésével párhuzamosan nagyon jelentős aktivitás tapasztalható (76. ábra). Az egyensúlyi és oldatszerkezeti eredmények alapján ezen részecske jelölésére helyesebb a $\text{Cu}_2\text{LH}_{1,1}(\text{OH})$ összetételt használni. 7,5-ös pH-tól a pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók telítésbe hajlanak, mely a 76. ábra tanúsága szerint összhangban van az említett komplex 100 %-os kialakulásával. A pH-függő mérés eredményét megerősíti a sebességi együtthatók fém-ligandum aránnyal való változása (77. ábra).

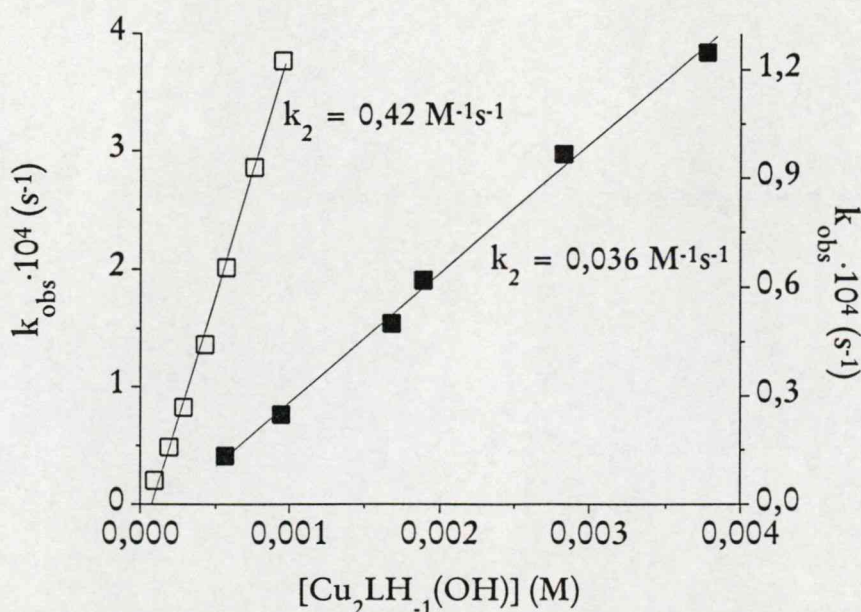


76. ábra: Eloszlásgörbék (folytonos vonal) és a pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók pH-függése a hpnp átészterítése során (■) a bpdpo-réz(II) 1:2 rendszerben ($[\text{L}] = 0,5 [\text{M}] = 7,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$)



77. ábra: A réz(II)–bpdpo arány hatása a pseudo elsőrendű sebességi együtthatókra a hpnp átészterestése során ($[\text{bpdpo}] = 0,4 \text{ mM}$, $\text{pH} = 7,5$, $T = 298 \text{ K}$)

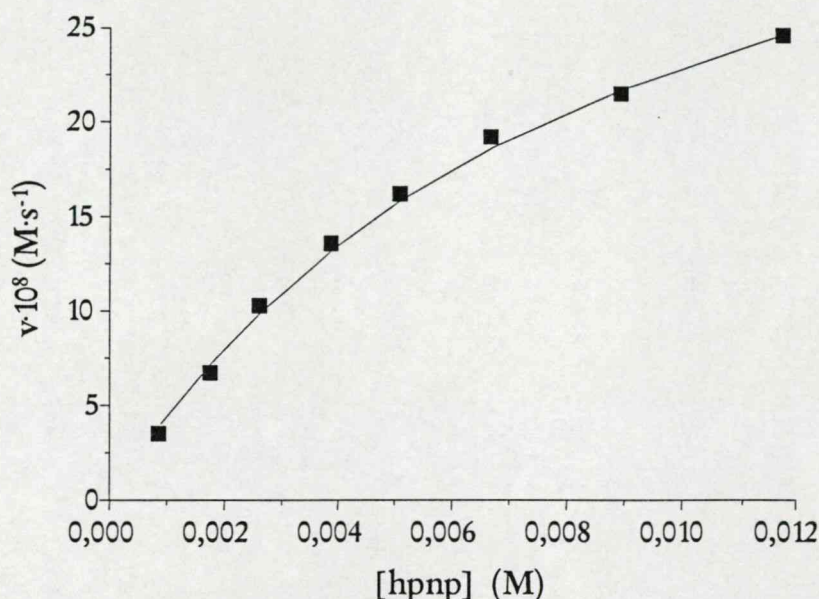
A 2:1 aránynál elért maximum (mely a fémion-koncentráció további növelésére nem változik) a kétmagvú komplex aktivitását tükrözi. A hpnp szubsztrát hidrolízisére mért sebességi együtthatók első rend szerint változnak a komplex koncentrációjával (78. ábra). A függvény meredekségéből számolható k_2 másodrendű együttható $0,42 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, amely több, mint ötszöröse a hidroxidion által katalizált folyamat $k_{2,\text{OH}}$ értékének.



78. ábra: A $[\text{Cu}_2\text{LH}_{-1}(\text{OH})]$ komplex koncentrációjának hatása a pseudo elsőrendű sebességi együtthatókra a hpnp átészterestése (\square) és a cUMP hidrolízise (\blacksquare) során
 (\square) $[\text{bpdpo}] = 0,5 \cdot [\text{Cu(II)}]$, $\text{pH} = 7,5$, $T = 298 \text{ K}$, $[\text{hpnp}] = 1 \text{ mM}$
 (\blacksquare) $[\text{bpdpo}] = 0,5 \cdot [\text{Cu(II)}]$, $\text{pH} = 7,25$, $T = 308 \text{ K}$, $[\text{cUMP}] = 50 \mu\text{M}$

Ahhoz, hogy az átészterestés folyamatáról pontosabb képet kapjunk telítési kinetikai vizsgálatokat végeztünk. Amint azt a 79. ábra mutatja, 30-szoros szubsztrátfelesleg felett a kezdeti

sebesség értékek telítésbe kezdenek hajlani. Eszerint feltételezhető, hogy a komplex és a szubsztrát valamint a katalitikusan aktív komplex-szubsztrát adduktum közötti gyors előegyensúlyt követi a szubsztrát adduktumon belüli transzformációja, mely a reakciósebességet meghatározza. Az adatok kezelését a Michaelis-Menten modell alapján végeztük, s a nemlineáris paraméter-illesztés révén meghatározott állandók a következők: $K_M = 0,0087 \text{ M}$ ($K_{\text{ass}} \sim 1/K_M = 115 \text{ M}^{-1}$), $k_{\text{cat}} = 0,0028 \text{ s}^{-1}$. A katalitikus sebességi együttható valamivel nagyobb, mint az irodalomban eddig közölt legnagyobb érték ($0,0026 \text{ s}^{-1}$)¹⁶⁷, de hozzá kell tenni, hogy ez az adat nem áll rendelkezésre minden nagy aktivitású rendszer esetében¹¹⁸. A megadott állandók alapján a kétmagvú réz(II)komplex 7,5-ös pH-n $\sim 3,5 \cdot 10^4$ -szeresére gyorsítja a hpnp hidrolízisét ($k_{\text{auto}} = 8 \cdot 10^{-8} \text{ s}^{-1}$). K_{ass} értéke nem utal specifikus kölcsönhatásra a komplex és a szubsztrát között.

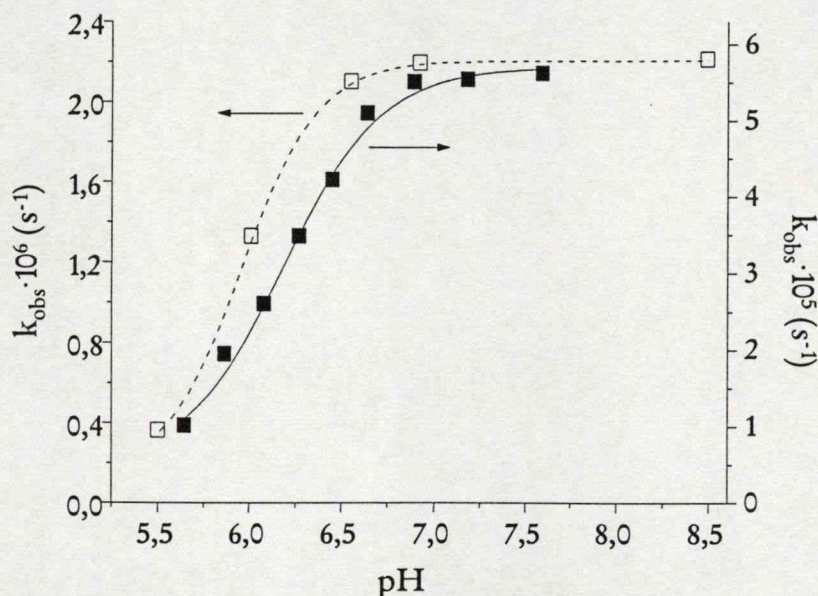


79. ábra: A kezdeti sebesség (v) hpnp-koncentrációtól való függése a bpdpo-réz(II) rendszerben ($\text{pH} = 7,5$, $[L] = 0,5 \cdot [M] = 1,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$)

A $\text{Cu}_2\text{LH}_{-1}(\text{OH})$ komplex által elősegített átészterestési folyamat katalitikus, a szubsztrát négyszeres feleslegének jelenlétében (2 mM) elsőrendű kinetikat követő négy katalitikus ciklust mértünk az aktivitás számottevő csökkenése nélkül.

Kinetikai mérések a bpdpo-réz(II) rendszerben 2'3'-cUMP és UpU alkalmazásával: A ribonuklázok természetes szubsztrátjainak kiváló modelljei a ribonukleozid-2'3'-monofoszfátok illetve diribonukleotidok. Ezért a bpdpo-réz(II) rendszer hidrolitikus hatását cUMP és UpU szubsztrátokra is teszteltük, hogy a kétmagvú komplex ribonukleáz utánzó tulajdonságairól további ismereteket nyerjünk. A pH-függő kinetikai mérések szerint a $\text{Cu}_2\text{LH}_{-1}(\text{OH})$ részecske mindkét biológiai szubsztrát hidrolízisét képes elősegíteni (80. ábra), a görbék lefutása mindkét esetben szigmoidális jellegű (hasonlóan a hpnp esetében tapasztaltakhoz). A pH-függő sebességi együtthatókból 308 K-en 6,0-os (UpU) és 6,2-es inflexiós pontok határozhatók meg. Ezek az adatok, a körülmények (elsősorban a hőmérséklet) különbségeinek figyelembevételével, jó egyezést mutatnak a stabilitási állandók alapján azonos koncentrációra meghatározható értékkel (= 6,25). A cUMP hidrolízise elsőrend szerint függ a komplex koncentrációjától (78. ábra). Az egyenes meredekségéből számolható másodrendű sebességi együttható $0,036 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, amely

körülbelül ötszöröse a hidroxidion által katalizált folyamat $k_{2,\text{OH}}$ értékének ($= 0,0065 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$)¹⁶⁶. Mind a cUMP, mind az UpU hidrolitikusan rendkívül stabil 7-es pH-n. Az autohidrolízisre vonatkozó másodrendű sebességi együtthatókból ($k_{2,\text{OH}}(\text{UpU})$, $308 \text{ K} \sim 2 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$)¹⁶⁸ pH7-re $\sim 6,5 \cdot 10^{-10} \text{ s}^{-1}$ (cUMP) és $2 \cdot 10^{-10} \text{ s}^{-1}$ sebességi együtthatók számolhatók (a megfelelő féleletidők: 33 év (cUMP) és 110 év (UpU)). A kétmagvú komplex jelenlétében (2 mM) a cUMP hasítása esetében ~ 5 nagyságrendnyi, míg az UpU hidrolízise során több, mint 4 nagyságrendnyi sebességnövekedés tapasztalható az autohidrolízishez képest. Feltétlenül említést érdemel, hogy a bpdpo kétmagvú réz(II)komplexének hidrolitikus aktivitása az alkalmazott szubsztráttól függően 10-20-szor nagyobb, mint az azonos összetételű bimido komplexé. A két rendszerben előállított kétmagvú réz(II)komplexek egyensúlyi viselkedésének és röntgenszerkezetének nagymértékű hasonlósága miatt (45. és 53. ábrák) a jelenség korrekt magyarázatát nem tudjuk megállapítani.



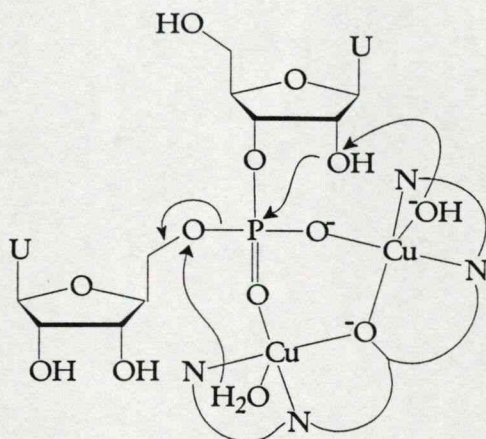
80. ábra: A pseudo elsőrendű sebességi együtthatók pH-függése a bpdpo–réz(II) rendszerben biológiai szubsztrátok hidrolízise során

(■) cUMP szubsztrát, $[\text{bpdpo}] = 0,5$, $[\text{Cu(II)}] = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 308 \text{ K}$

(□) UpU szubsztrát, $[\text{bpdpo}] = 0,5$, $[\text{Cu(II)}] = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 308 \text{ K}$

A foszfátdiészter hidrolízis mechanizmusa: Az eddig tárgyalt kísérleti eredmények segítségével lehetőség van a mechanizmussal kapcsolatos következtetések levonására. A telítési kinetikai vizsgálatok azt mutatják, hogy a hpnp átészteresítése egy komplex-szubsztrát adduktumon keresztül játszódik le. Az 53. ábrán bemutatott röntgenszerkezet alapján valószínűsíthető a szubsztrát μ -1,3-hidas koordinációja a komplexben, mely lehetővé teszi a szubsztrátmolekula kettős Lewis-sav aktiválását. Emellett az is valószínű, hogy a PO_4 egységben fellépő kötésszög torzulások okozta feszültség (Függelék) tovább növeli a nukleofil támadás lehetőségét a foszforatomon. A pH-függő mérések azt mutatják, hogy az átészteresítési illetve hidrolízis folyamatok sebessége maximumot ér el 7–7,75 pH-tartományban, majd a pH további növelésének hatására már nem változik. Ez (a bimido ligandumot tartalmazó rendszerekhez hasonlóan) arra utal, hogy a hpnp és UpU szubsztrátok átalakulása során az általános bázis típusú katalízisért a fémionhoz kötött hidroxidion a felelős (81. ábra). Másrészt a másik fémionhoz kötött vízmolekula által kifejtett általános sav katalízis lehetőségét sem szabad figyelmen kívül.

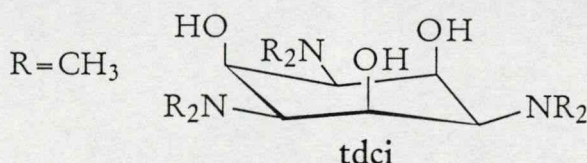
Amint azt korábbi eredmények is igazolták¹⁶⁹, a fémionhoz kötött vízmolekula a távozó csoport protonálásával elősegítheti annak leszakadását, s a hidroxidion viszamaradásával egyúttal az aktív komplex is regenerálódik. A cUMP szubsztrát gyűrűfelyitési reakciójában, a 2'-OH-csoport hiánya miatt, a fémionhoz kötött hidroxidion közvetlen nukleofil támadásának is szerepe lehet. A cUMP-re mért sebességnövekedés az autohidrolízishez képest mintegy 8-szor nagyobb, mint az UpU-ra vonatkozó hasonló adat. Ez a különbség nem annyira jelentős, hogy a mechanizmusban alapvető eltérést kellene keresnünk (amit az említett közvetlen nukleofil támadás jelentene). Így feltételezésünk szerint a cUMP hidrolízise során is általános bázis típusú katalízis felelős elsődlegesen a folyamat lejárásáért.



81. ábra: Az UpU hidrolízisének $\text{Cu}_2\text{LH}_{-1}(\text{OH})$ komplex által katalizált mechanizmusa

5.2.4. 1,3,5-tridezoxi-1,3,5-trisz(dimetil-amino)-cisz-inozitol átmenetifém-komplexeinek hatása nemaktivált foszfátészterekre

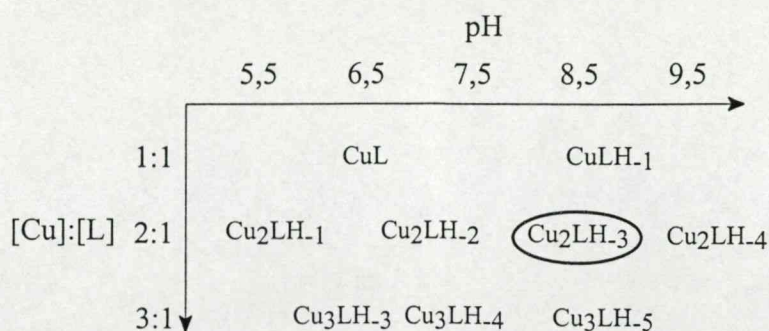
Egy triamino-inozitol származék (tdci, 82. ábra) réz(II)- és cink(II)komplexeinek nemaktivált biológiai foszfátészterekre (ciklikus nukleotidok, dinukleotidok) gyakorolt hidrolitikus hatását is tanulmányoztuk. Kutatócsoportunk korábban részletesen vizsgálta a tdcí-réz(II) rendszerben képződő komplexek összetételét és szerkezetét egyensúlyi és szerkezetvizsgáló módszerekkel¹⁷⁰. Emellett a képződő komplexek aktivált észterek hidrolízisére gyakorolt hatását is tanulmányozták. Ezek nem képezik részét doktori munkámnak, de a dolgozat további részeinek könnyebb értelmezhetősége miatt azokat az alábbiakban foglalom röviden össze.



82. ábra: A tdcí ligandum szerkezete

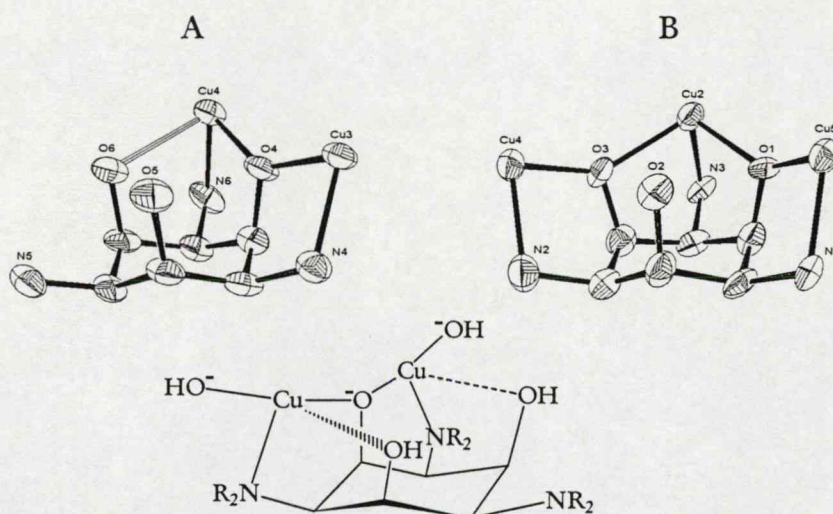
A tdcí-réz(II) rendszerre vonatkozó korábbi eredmények¹⁷⁰: Szegedi és saarbrückeni kutatók kiterjedt egyensúlyi vizsgálatokat végeztek a kérdéses rendszerben képződő komplexek jellemzése céljából. Az alkalmazott fém-ligandum aránytól függően a tanulmányozott pH-tartományban változatos protonáltsági állapotú egy-, két- és hárommagvú komplexek képződését tapasztalták. Mint azt az alábbi sematikus ábra tükrözi (83. ábra), a tdcí-réz(II) rendszer igen összetett. Az eredmények arra utaltak, hogy a komplexekben a réz(II)ionokhoz a ligandum axiális

hidroxil/alkoxo- és ekvatoriális aminocsoportjai, valamint a koordinált vízmolekulák deprotonálódása révén képződő hidroxidionok koordinálódnak.



83. ábra: A *tdci*-réz(II) rendszerben képződő főbb komplexek pH-metriás mérések alapján

Vizes közegből a kutatóknak sikerült röntgenkristallográfiás mérésekre alkalmas egykristályt előállítaniuk. A szilárd komplex bonyolult összetételű ötmagvú részecske, melyben három ligandum molekulához öt réz(II)ion koordinálódik. A szilárd komplex kétmagvú és hárommagvú fragmenseinek szerkezete alapján (84A-B. ábra), összhangban az ESR-mérések eredményeivel, a kutatók a 84C. ábrán látható szerkezetet rendelték hozzá az oldategyensúlyi mérésekkel 8,5-ös pH környékén detektált Cu_2LH_3 komplexhez.

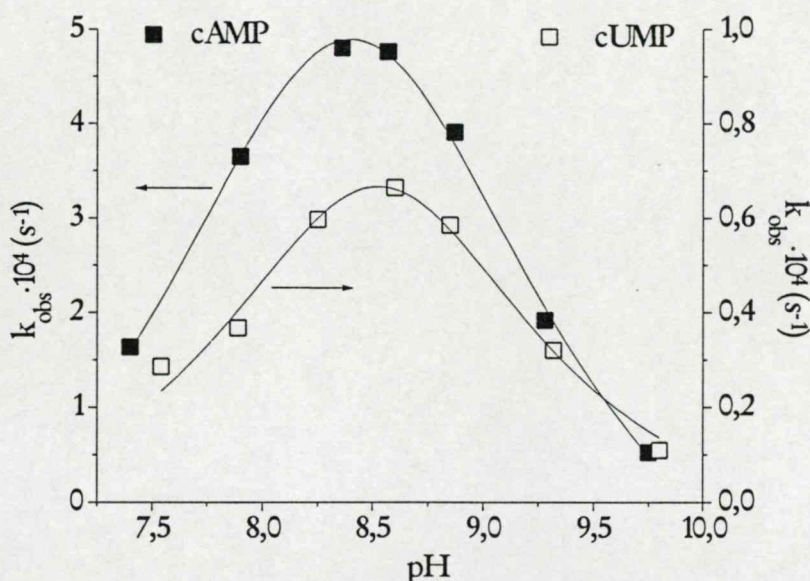


84. ábra: A *tdci*-réz(II) rendszerben előállított ötmagvú részecske kétmagvú (A) és hárommagvú fragmense (B), valamint a vizes oldatban képződő Cu_2LH_3 komplex valószínűsített szerkezete

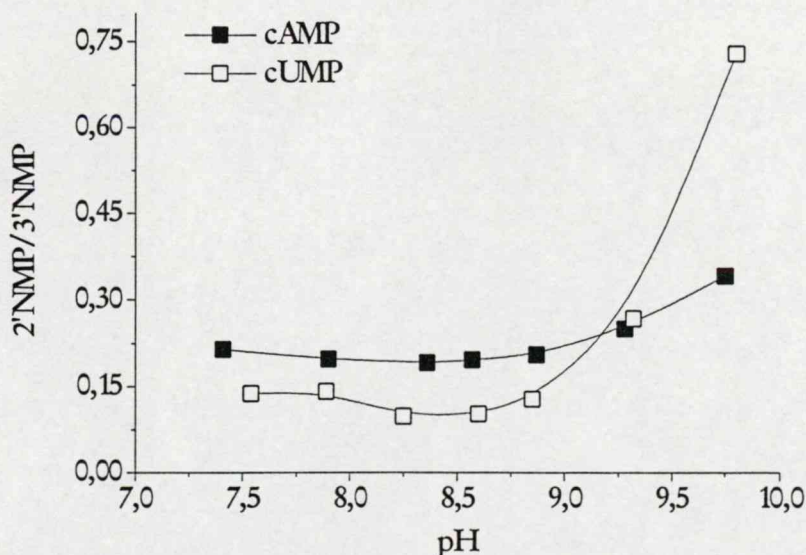
Az aktivált foszfátészter BNPP-vel elvégzett pH-függő kinetikai mérések során a pseudo elsőrendű sebességi együtthatók maximuma 8,5-ös pH környékén volt, s a szubsztrát hidrolízise a hidroxidion katalizálta folyamathoz képest rendkívüli mértékben, mintegy 10^7 -szeresére gyorsult ($[\text{Cu(II)}] = 2[\text{tdci}] = 8,80 \cdot 10^{-4} \text{ M}$). A fém-ligandum arány változtatásával 8,5-ös pH-n elvégzett mérések során 2:1 aránynál tapasztaltak a kutatók maximális aktivitást. Az eredmények tehát arra utaltak, hogy a hidrolitikus aktivitás az alkoholáthidas szerkezetű Cu_2LH_3 összetételű komplexhez rendelhető.

Biológiai foszfátészterek hidrolízise a *tdci*-réz(II) rendszerben: Az előzetes eredmények ismeretében 2:1 fém-ligandum arány alkalmazásával kétfajta ciklikus nukleotid, a 2'3'-cUMP és 2'3'-cAMP hidrolízisét tanulmányoztuk a pH függvényében. A két szubsztrát esetében mért

pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók változását mutatja be a 85. ábra. Szembetűnő a jelentős aktivitásbeli különbség az adenzin tartalmú nukleotid javára. Az eltérés több, mint 3-szorosa a két ciklikus nukleotid autohidrolízisére vonatkozó $k_{2,OH}$ értékek arányának. Ebben esetleg szerepe lehet az aktív komplex és a nukleotidok (elsősorban a cAMP) bázis része közötti kölcsönhatásnak is. A pH-függő görbék harang jellege és a pH-maximum helye csaknem teljesen azonos a BNPP szubsztrát esetében tapasztaltakkal. Ez azt sejteti, hogy a kinetikai aktivitásért ugyanaz a komplex felelős, mint az aktivált észtereknél.



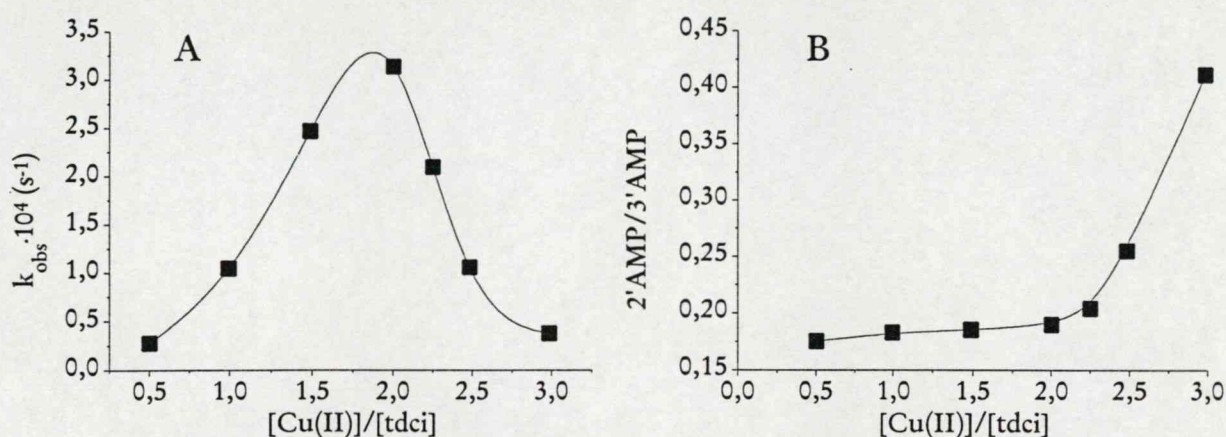
85. ábra: A pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók pH-függése a tdcI-réz(II) rendszerben
 (■) cAMP szubsztrát, $[tdcI] = 0,5$, $[Cu(II)] = 2,5 \cdot 10^{-3}$ M, $T = 298$ K, $[cAMP] \sim 80 \mu M$
 (□) cUMP szubsztrát, $[tdcI] = 0,5$, $[Cu(II)] = 2,5 \cdot 10^{-3}$ M, $T = 298$ K, $[cUMP] \sim 80 \mu M$



86. ábra: A 2' és 3' termékek arányának változása a pH függvényében a tdcI-réz(II) rendszerben
 (■) cAMP szubsztrát, $[tdcI] = 0,5$, $[Cu(II)] = 2,5 \cdot 10^{-3}$ M, $T = 298$ K, $[cAMP] \sim 80 \mu M$
 (□) cUMP szubsztrát, $[tdcI] = 0,5$, $[Cu(II)] = 2,5 \cdot 10^{-3}$ M, $T = 298$ K, $[cUMP] \sim 80 \mu M$

A maximumhoz tartozó pH-n mért hidrolitikus aktivitás, ha nem is páratlan, de rendkívül jelentős sebességnövekedést jelent a ciklikus nukleotidok azonos pH-n mért autohidrolíziséhez

képest (cUMP: ~ 6500-szoros, cAMP: ~ 21000-szeres). A ciklikus nukleotidok hidrolízise kétféle módon mehet végbe: vagy a 2'-O-P vagy a 3'-O-P kötés hasadásával. Ennek megfelelően a keletkező termékek 3'NMP és 2'NMP lehetnek, valamint azok esetleges további hasadásával képződő nukleozid és szabad foszfátion. (A nukleozid 2'- és 3'-monofoszfátok hasadását nem tapasztaltuk a tdcí komplexei esetében.) A természetes enzimek 100 %-os szelektivitással a 2'-O-P kötetést hasítják, azaz a termék kizárólag 3'NMP. A kinetikai vizsgálataink során minden alkalommal figyeltük a termékarány változását. A 2'- és 3'-termékek aránya ugyancsak változik a pH-val az aktív részecske molarány-változásának következtében (86. ábra). Rendkívül figyelemreméltó, hogy a cUMP szubsztrát hidrolízise révén keletkező 3'UMP és 2'UMP aránya a kinetikai maximumhoz tartozó pH-n ~ 9:1. Ez nagyon jelentős regioszelektivitásra utal. Az is megfigyelhető a 87. ábrán, hogy a szelektivitás a pH növelésével csökken, összhangban a részecskeeloszlás változásával, az aktív komplex koncentrációjának csökkenésével.

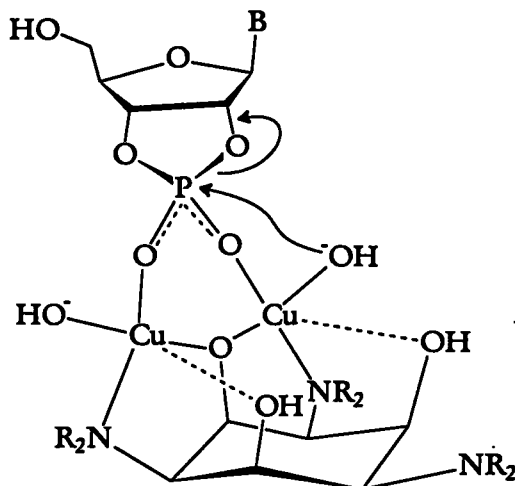


87. ábra: A pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók (A) és a 2'AMP:3'AMP termékarány (B) változása a fém-ligandum arány függvényében a tdcí-réz(II) rendszerben (szubsztrát: 2'3'-cAMP)
 $pH = 8,45$, $[tdci] = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $[cAMP] \sim 80 \mu\text{M}$

Bár az eddig bemutatott eredmények arra utalnak, hogy a ciklikus nukleotidok hidrolíziséért is a BNPP-t hatékonyan hidrolizáló Cu_2LH_3 komplex felelős, fém-ligandum arány függő méréseket is végeztünk ennek igazolására. Állandó tdcí koncentráció mellett növeltük a réz(II)ionok koncentrációját, ennek révén a fémionfelesleget. A pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók maximuma 2:1 aránynál mérhető (87A. ábra), mely egyértelműen azt mutatja, hogy a kérdéses kétmagvú komplex jelenléte szükséges a hatékony hasításhoz. Az 1:1 aránynál tapasztalt viszonylag jelentős aktivitás annak köszönhető, hogy a Cu_2LH_3 komplex számottevő mennyiségben képződik már ekvimoláris összetételű oldatban is. A háromszoros fémionfelesleg mellett mért sebességi együttható értéke azt mutatja, hogy az ilyen körülmények mellett 100 %-ban jelenlevő hárommagvú komplexek is számottevő aktivitással bírnak. A 2'- és 3'AMP aránya a 2:1 fém-ligandum arány eléréséig számottevően nem változik, amely mutatja, hogy ilyen körülmények között döntően egy komplex felelős a cAMP hidrolíziséért. A fém-ligandum arány további növelésének hatására, a hárommagvú komplexek molarányának növekedésével párhuzamosan csökken a termékszelektivitás is (87B. ábra).

Tanulmányoztuk a tdcí réz(II)komplexeinek hatását dinukleotidok hidrolízisére is. Azonban a reakció rendkívül lassúnak bizonyult, így a sebességi együtthatók meghatározását nem tudtuk elvégezni. A Cu_2LH_3 komplex, mely kimagasló aktivitást mutatott az aktivált foszfodiészter

BNPP hasítása során, nem képes elősegíteni a biológiai foszfodiészter dinukleotidok hidrolízisét, azaz nem tudja modellezni az RNS-hidrolízis első lépését. Ugyanakkor nagy aktivitást mutat a folyamat második lépése, a ciklikus nukleotidok gyűrűnyitási reakciója során.



88. ábra: Az ciklikus nukleotidok Cu_2LH_3 komplex által elősegített hidrolízisének lehetséges mechanizmusa a tdcí-réz(II) rendszerben

A k_{obs} vs. pH függés maximumgörbe jellege illetve a maximális aktivitás helye (pH~8,5) azt mutatja, hogy valamelyik fémionhoz kötött hidroxidion indukálja a nukleofil támadást a foszforatomon vagy közvetlenül, vagy általános bázisként, egy vízmolekulát deprotonálva. A ligandum valamelyik alkoholát csoportja is lehetne a nukleofil reaktáns, ekkor azonban az átészterelési reakció következményeként a komplexben kötött ligandum foszforilálása játszódna le, de ilyen (közti)terméket nem detektáltunk. (A BNPP hidrolízise során sem mutattak ki ilyen (közti)terméket¹⁷⁰). Bár koncentrációfüggő méréseket ebben a rendszerben nem végeztünk, a pH-maximumnál mért pszeudo elsőrendű sebességi együtthatóból a bemérési koncentráció alapján a részecskeeloszlás figyelembevételével¹⁷⁰ a Cu_2LH_3 komplexre kiszámítható másodrendű együttható értéke $\sim 0,056 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Ez ~ 17 -szerese a hidroxidion katalizálta folyamat $k_{2,\text{OH}}$ értékének. Ez a másodrendű együttható (10 K-nel alacsonyabb hőmérsékleten!) valamivel nagyobb, mint a bpdpo kétmagvú réz(II)komplexére meghatározott érték. Ez a különbség önmagában még nem utalna feltétlenül mechanizmusbeli eltérésekre. A bpdpo esetében a cUMP-re és UpU-ra vonatkozó hasonló aktivitás alapján azonos mechanizmust, a fémionhoz kötött hidroxidion általános bázis szerepét feltételeztük. A tdcí kétmagvú komplexe azonban nem segítette elő a dinukleotidok hidrolízisét, amely arra enged következtetni, hogy a hidroxidion nem általános bázisként működik, hanem közvetlenül támadja a ciklikus foszfátészter parciálisan pozitív töltésű foszforatomját. Amint arról korábban már volt szó, a fémionhoz kötött hidroxidion nukleofil sajátsága elmarad a szabad hidroxidionétól. Így feltétlenül érvényesülnie kell más hatásnak is, mely nagy valószínűséggel a kétmagvú részecske réz(II)ionjainak kettős Lewis-sav típusú aktiváló szerepében keresendő, mely polarizálja a P–O kötést. A feltételezett folyamatot a 89. ábra szemlélteti. Meg kell azonban jegyezni, hogy a vázolt mechanizmus minden valószínűség szerint nem fedi teljesen a valóságot, ugyanis nem nyújt magyarázatot a tapasztalt bázisszelektivitásra.

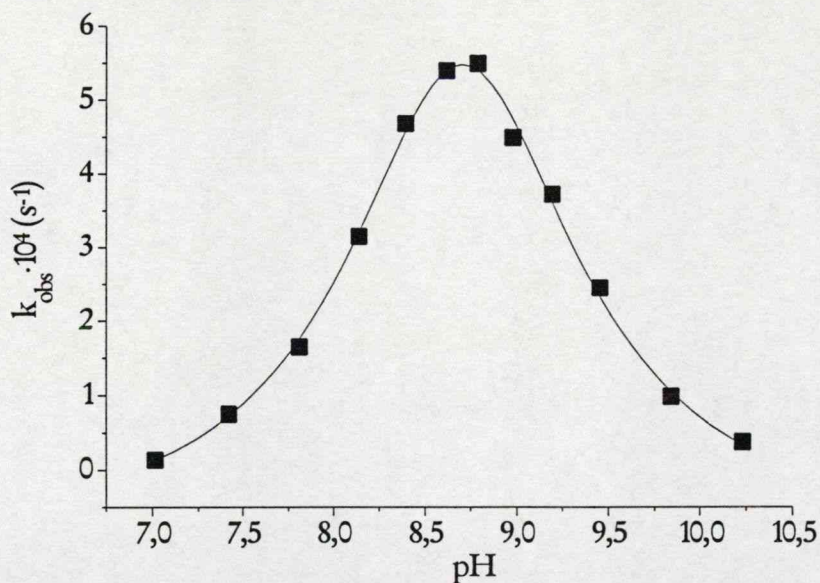
Biológiai foszfátészterek hidrolízise a tdcí-cink(II) rendszerben: A tdcí ligandum cink(II)komplexeiről egyensúlyi és/vagy oldatszerkezeti információval nem rendelkezünk. A réz(II)ionnál meghatározott részecskeeloszlás azonban adhat támpontot a cink(II)tartalmú rendszerrel kapcsolatban is. Feltételezhető ebben a rendszerben is a különböző protonáltsági állapotú egy- illetve többmagvú komplexek jelenléte. Természetesen nem zárható ki olyan komplexek jelenléte sem, melyek a réz(II) esetében nem szerepelnek a részecske-mátrixban. Ezen megfontolások alapján kinetikai vizsgálatainkat 2:1 fém-ligandum arány alkalmazásával kezdtük, feltételezve, hogy a cink(II)tartalmú oldatokban is kétmagvú komplexek lehetnek hatékonyak. Tanulmányoztuk a 2'3'-cUMP hidrolízisét a pH függvényében. A pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók maximum görbe szerint változnak, a maximum helye 8,25-ös pH körül mérhető. A tapasztalt aktivitás azonban csak a harmada a réz(II)komplex esetén tapasztaltunk ($k_{obs} = 2,32 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, $[tdcí] = 0,0025 \text{ M}$). Meg kell azonban jegyezni, hogy az aktív részecske összetételét és mólarányát egyéb vizsgálatok hiányában nem ismerjük, így nem tudjuk, hogy a mért aktivitás az aktív komplex milyen koncentrációjához rendelhető. A maximális aktivitásnak megfelelő pH-n megvizsgáltuk a cink(II)komplexe cAMP hidrolízisére gyakorolt hatását is. A meghatározott sebességi együttható mintegy kétszerese a cUMP-nél tapasztaltunk, ez a növekedés azonban megfelel a két szubsztrát autohidrolízisére vonatkozó k_{2OH} értékek eltérésének ($k_{2OH}^{cAMP} \approx 2,2 k_{2OH}^{cUMP}$). A tdcí-réz(II) illetve tdcí-cink(II) rendszerben különböző szubsztrátok esetében meghatározott pszeudo elsőrendű sebességi együtthatókat a 20. táblázat foglalja össze. A tdcí-t és cink(II)ionokat tartalmazó oldatokban tanulmányoztuk egy dinukleotid (3'5'-UpU) hidrolízisét is. Azonban a réz(II)komplexekhez hasonlóan nem tapasztaltunk számottevő gyorsulást az autohidrolízishez képest, így sebességi együtthatót nem határoztunk meg.

Biológiai foszfátészterek hidrolízise a tdcí-réz(II)-cink(II) rendszerben: Mint az irodalmi áttekintésben arról már volt szó, eltérő fémionokat tartalmazó aktív centrummal számos metalloenzim rendelkezik (pl. szuperoxid-dizmutáz, adenzin-deamináz)²⁸. A hidrolitikus enzimek között is találunk példát ilyen aktív centrumokra. A legismertebb vegyesmagvú enzim a bíborsav-foszfátáz²⁸ (Fe-Zn), de ide sorolható a két cink(II)- és egy magnézium(II)iont tartalmazó alkalikus foszfátáz is²⁸, hozzáátve, hogy a funkció kifejtésében a két cink(II)ion jelenléte a döntő, a magnézium(II)ionnak leginkább szerkezetalkító szerepe lehet.

Számos modellvizsgálat is foglalkozik vegyes magvú komplexekkel. Krebs és munkatársai egy alkoholáthidas vas(III)-cink(II) kétmagvú komplexszel a fentebb említett bíborsav-foszfátáz aktív centrumának szerkezetét és funkcióját modellezték¹⁷¹. Komiyama kutatócsoportja vas(III)- és cink(II)-¹¹⁶, illetve vas(III)- és lantán(III)ionokat¹⁷² tartalmazó komplexekkel igazolta az eltérő sajátságú fémionok kooperációjának előnyös hatásait, míg Molenveld kalix[4]arén alapú hárommagvú cink(II)-cink(II)-réz(II)komplexe bizonyult aktívabbnak a megfelelő hárommagvú cink(II)- és réz(II)komplexeinél dinukleotidok hidrolízise során¹⁷³.

A tdcí ligandum biner rendszereinek tanulmányozása során felvetődött a kérdés, hogy a két alkalmazott fémion (réz(II) és cink(II)) együttes jelenléte eredményez-e sebességnövekedést a ciklikus nukleotidok illetve dinukleotidok hidrolízisében. Ezért elsőként, a biner rendszerek által eredményesen hasított ciklikus nukleotidokkal, ezen belül is a hidrolitikusan legellenállóbb 2'3'-cUMP-vel pH-függő kinetikai méréseket végeztünk (89. ábra). Sajnos a kétféle fémiont és a ligandumot tartalmazó oldatokban bármilyen háttérelektrolit alkalmazásakor csapadék leválását tapasztaltuk ~ 8-as pH felett, így a pufferek mellett egyéb ionerősség-beállító sókat nem alkalmazva

folytattuk vizsgálatainkat. A pH-függő mérések során a fém-ligandum arányt 2:1 értékre állítottuk be, figyelembe véve, hogy a biner oldatokban ilyen aránynál tapasztaltunk maximális sebességnövekedést. A két fémion arányát, előismeretek hiányában, kiindulásként ekvimolárisnak választottuk. (A terner rendszerre nem áll rendelkezésre egyensúlyi adat, mert már a biner tdciréz(II) rendszer önmagában is rendkívül bonyolult.) A pszeudo elsőrendű együtthatók pH-függése harang jellegű, a maximum helye 8,75-ös pH-nál mérhető. A maximumhelyénél mért sebességi együttható a szubsztrát autohidrolíziséhez viszonyítva mintegy 30000-szeres gyorsulást jelent. A k_{obs} együtthatók maximális értéke csaknem egy nagyságrenddel nagyobb, mint tdciréz(II), és ~ 30 -szorosa a tdciréz(II) rendszerben mért értékeknek. Ez mindenképpen a két fémion együttes hatására utal és vegyesmagvú komplexek jelenlétét feltételezi, hiszen a biner oldatokhoz képesti sebességnövekedés a kétmagvú réz(II)- és cink(II)komplexek együttes jelenlétével nem értelmezhető. A vegyesmagvú komplexek jelenlétét a tdciréz(II)komplexeinek szerkezetvizsgálata kapcsán végzett ESR-mérések is igazolták^{01Ga}. Kétszeres réz(II) felesleg mellett a kétmagvú réz(II)komplexek 100 %-os jelenlétében (pH 10 felett) az oldat ESR-csendes volt. A réz(II)ionokat folyamatosan cink(II)ionokra cserélve (a 2:1 fém-ligandum arányt megtartva) csapadék leválását nem tapasztalták, ugyanakkor az ESR-intenzitás látványosan növekedett. Ez egyértelműen vegyesmagvú komplex(ek) kialakulását jelzi.

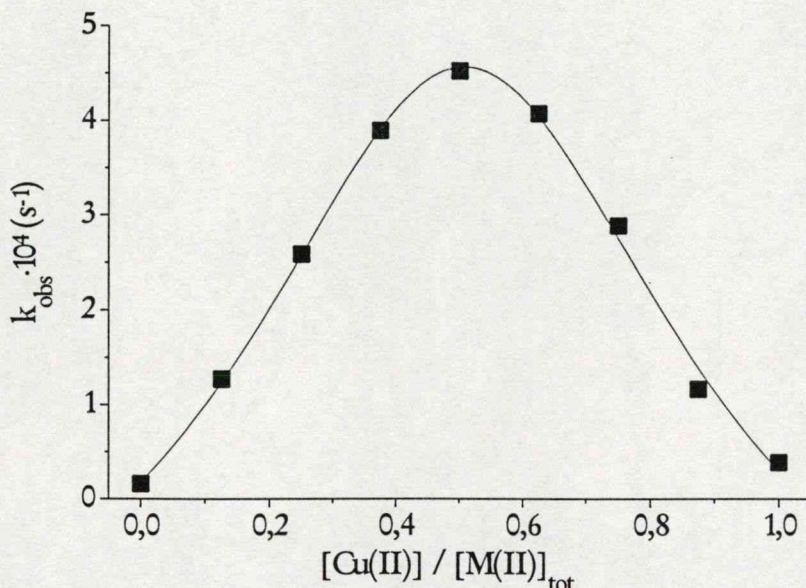


89. ábra: A pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók pH-függése a cUMP hidrolízise során a tdciréz(II)-cink(II) terner rendszerben ($[tdci] = [Cu(II)] = [Zn(II)] = 2,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $[cUMP] \sim 80 \mu\text{M}$)

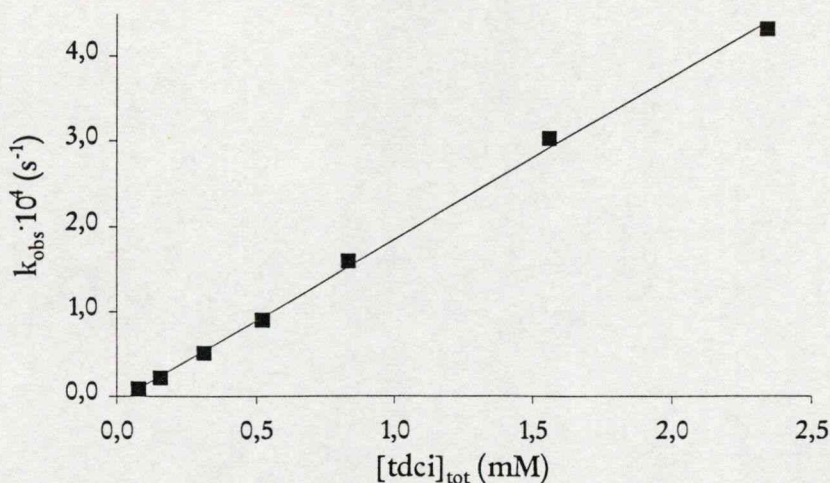
A megfelelő fém-ligandum arány meghatározásához 8,75-ös pH-n a Job-módszer alkalmazásával végeztünk méréseket. A tdciréz(II) koncentrációját és az összfémmion-koncentrációt állandó értéken tartottuk, ennek értelmében arányuk is állandó, 2:1 volt. A két fémion molarányának változtatásával nyert pszeudo elsőrendű együtthatókat mutatja be a 90. ábra. A görbe maximuma 1:1 aránynál tapasztalható, amely ha nem is bizonyítja, de mindenképpen valószínűsíti a hasonló összetételű kétmagvú komplex szerepét a hidrolitikus folyamatban.

A tdciréz(II)-cink(II) arányt állandó értéken tartva a koncentráció függvényében is követtük a sebességi együtthatók változását állandó, 8,75-ös pH-n (91. ábra). Az így nyert pontsorra egyenes illeszthető, azaz a sebességi együtthatók elsőrendű függést mutatnak az

összkoncentrációval. Az aktív részecske 100 %-os jelenlétét feltételezve az egyenes meredekségéből meghatározható másodrendű sebességi együttható: $0,190 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, mely ~ 60 -szorosa az autohidrolízisre vonatkozó $k_{2,\text{OH}}$ értéknek. Ez óriási különbséget jelent, figyelembe véve a szabad hidroxidion kiemelkedő nukleofil sajátságát. Amennyiben az aktív komplex (a tdciréz(II) rendszerhez hasonlóan) nem 100 %-os mennyiségben van jelen, esetleg nem is uralkodó komponens, úgy a tényleges k_2 érték és a biner rendszerhez képesti sebességnövekedés akár jóval nagyobb is lehet.



90. ábra: Pseudo elsőrendű sebességi együtthatók a réz(II)ion/összfémion mólarány függvényében a cUMP hidrolízise során a tdciréz(II)–cink(II) terner rendszerben ($\text{pH} = 8,75$, $[\text{tdci}] = 0,5 \cdot [\text{M(II)}]_{\text{tot}} = 2,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $[\text{cUMP}] \sim 80 \mu\text{M}$)



91. ábra: A pseudo elsőrendű sebességi együtthatók koncentrációfüggése a cUMP hidrolízise során a tdciréz(II)–cink(II) terner rendszerben ($\text{pH} = 8,75$, $[\text{tdci}] : [\text{Cu(II)}] : [\text{Zn(II)}] = 1 : 1 : 1$, $T = 298 \text{ K}$, $[\text{cUMP}] \sim 80 \mu\text{M}$)

Az aktív komplex szerkezetének és pontos összetételének hiányában nehéz egyértelmű következtetéseket levonni a mechanizmusra vonatkozóan, azonban az eddig bemutatott eredmények több dologra is utalnak. Valószínűsíthető a két fémion 1:1 aránya az aktív

komplexben, valamint azok előnyös együttműködése, amely a biner rendszerekhez képesti jelentős sebességnövekedést magyarázhatja. Az alkoholátcsoport nukleofil támadására utaló átmeneti vagy végterméket kromatográfiásan nem detektáltunk, így valószínűleg az egyik fémionhoz kötött hidroxidion a nukleofil reaktáns. A másodrendű együttható nagysága alapján feltételezhető a hidroxidion közvetlen támadása a foszforatomon és valószínűsíthető a szubsztrát (kettős) Lewis-sav aktiválása is a fémionok által. A korábban leírtak szerint ezúttal sem zárható ki az egyik fémionhoz kötött vízmolekula általános sav katalizátor szerepe a távozó nukleozid-monofoszfát alkoholátcsoportjának protonálásában.

20. táblázat: A ciklikus nukleotidok tdcí-komplexek által elősegített hidrolízisére vonatkozó pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók és termékarányok ($T = 298\text{ K}$, $[tdc] = 0,0025\text{ M}$)

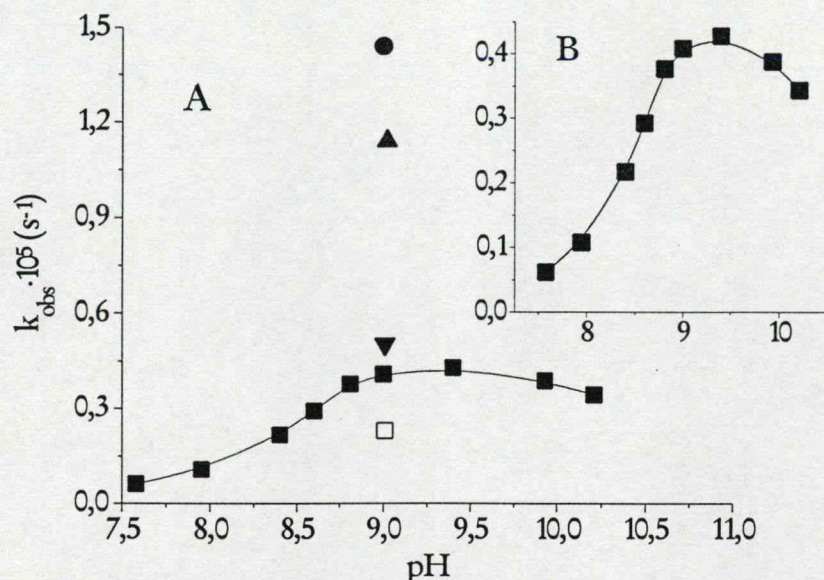
Szubsztrát	tdcí - Cu(II) - Zn(II) 1:1:1		tdcí - Cu(II) 1:2		tdcí - Zn(II) 1:2	
	pH = 8,75*		pH = 8,57*		pH = 8,26*	
	$k_{\text{obs}}\text{ (s}^{-1}\text{)}$	$\frac{[2'\text{NMP}]}{[3'\text{NMP}]}$	$k_{\text{obs}}\text{ (s}^{-1}\text{)}$	$\frac{[2'\text{NMP}]}{[3'\text{NMP}]}$	$k_{\text{obs}}\text{ (s}^{-1}\text{)}$	$\frac{[2'\text{NMP}]}{[3'\text{NMP}]}$
2'3'-cAMP	$2,32 \cdot 10^{-3}$	0,33	$4,76 \cdot 10^{-4}$	0,20	$5,18 \cdot 10^{-5}$	0,58
2'3'-cUMP	$5,49 \cdot 10^{-4}$	0,66	$6,64 \cdot 10^{-5}$	0,10	$2,32 \cdot 10^{-5}$	0,51
2'3'-cGMP	$8,43 \cdot 10^{-4}$	0,47	–	–	–	–
2'3'-cCMP	$6,20 \cdot 10^{-4}$	1,10	–	–	–	–

*A pH-értékek állandó értéken tartását HEPES (0,03 M) és CHES (0,03 M) pufferekkel végeztük.

A tdcí-réz(II) biner rendszerben az aktív komplex eltérő hatékonysággal segíti elő különböző ciklikus nukleotidok hidrolízisét. A tdcí-réz(II)–cink(II) rendszerben négy 2'3'-ciklikus nukleotid (cUMP, cAMP, cGMP és cCMP) hidrolízisét vizsgáltuk 8,75-ös pH-n. A tapasztalt bázisszelektivitás kisebb, mint a tdcí-réz(II) biner rendszerben, azonban ezúttal is az adenintartalmú nukleotid (cAMP) hidrolízisét segíti elő leginkább az aktív komplex. A terner rendszer 8,75-ös pH-n ~58000-szeresére gyorsítja a cAMP és ~3000-szeresére a cUMP hidrolízisét. A reakció során mért termékarányok sem utalnak olyan mértékű regioszelektivitásra, mint amit a tdcí-réz(II)–cUMP rendszerben tapasztaltunk. A 20. táblázat összefoglalja a biner és terner rendszerekben az egyes kinetikai maximumokhoz tartozó pH-kon mért pszeudo elsőrendű sebességi együtthatókat, és a keletkező termékek (2'- és 3'-monofoszfátok) arányát.

Felmerülhet a kérdés, hogy a biner komplexekkel ellentétben képes-e a terner rendszerben képződő aktív komplex elősegíteni dinukleotidok hidrolízisét is. A ciklikus nukleotidok hidrolízise során legmegfelelőbbnek talált körülmények között (1:1:1 tdcí-réz(II)–cink(II) arány) követtük az RNS-modellként gyakran alkalmazott 3'5'-uridil-uridin (3'5'-UpU) hidrolízisét a pH függvényében (92A. ábra). Ellentétben az azonos magvú komplexekkel, a hidrolízis sebességének rendkívül jelentős növekedését tapasztaltuk 308 K-en. A sebességi együtthatók maximum jellegű pH-függést mutatnak, azonban a görbe nem a ciklikus nukleotidoknál tapasztalt tökéletes harang alakú, emellett a sebességi együtthatók maximuma is nagyobb pH-értékek felé tolódik (maximumhely: pH~9,0–9,1). A maximumhely eltolódásának mértéke a 10 K-es hőmérséklet-különbséggel önmagában nem magyarázható, és a görbe viszonylag széles alakja is azt sejteti,

hogy egynél több komplex felelős a tapasztalt aktivitásért. Az alkalmazott 0,0025 M-os tdcí koncentráció mellett 9,0-es pH-n mért pszeudo elsőrendű sebességi együttható ($4,09 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$) az autohidrolízishez képest ~ 200 -szoros gyorsulást jelent. Megvizsgáltuk a terner rendszer hatását egyéb dinukleotidokra is 9-es pH környékén. A mérések meglepő eredményekhez vezettek, melyek 92B. ábrán láthatók.



92. ábra: A pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók pH-függése a 3'5'-UpU hidrolízise során a tdcí-réz(II)-cink(II) 1 : 1 : 1 rendszerben (A,B), valamint egyéb dinukleotidokra 9,0-es pH-n meghatározott sebességi együtthatók (A). ([tdcí] = $2,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 308 \text{ K}$, [szubsztrát] $\sim 80 \mu\text{M}$)
 (■) 3'5'-UpU (▼) 2'5'-UpU (●) 3'5'-ApA (□) 2'5'-ApA (▲) 3'5'-UpA

Az egyes szubsztrátok hidrolízisének sebessége jelentősen eltérő. A terner rendszer legaktívabbnak a 3'5'-ApA hasítása során bizonyult, annak hidrolízisét ~ 2200 -szorosára gyorsította (a szubsztrát féléletidejét 3,4 évről 13 órára csökkentette), s az egyetlen aktív komplex 100 %-os jelenlétének feltételezése révén kiszámítható másodrendű sebességi együttható ($\sim 0,0058 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) csaknem 9-szerese a hidroxidion-katalizálta folyamatra vonatkozó $k_{2,\text{OH}}$ értéknek ($k_{2,\text{OH}} \sim 6,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)¹⁶⁸. Feltétlenül meg kell jegyezni, hogy látványos különbség mutatkozik a 3'5'- és 2'5'-adenozil-adenozin izomerek hidrolízisének sebessége között. Ez a különbség nem magyarázható a 2'- és 3'-hidroxilcsoportok eltérő savasságával ezen a pH-n, már csak azért sem, mert magas pH-értékeknél (pH ~ 13 -nál) a 2'5'-izomer autohidrolízise gyorsabb, mint a 3'5'-izomeré. (Az izomerek autohidrolízisének sebességkülönbsége a pH csökkenésével fokozatosan csökken¹⁶⁸.) A sebességi együtthatók jelentős különbségének értelmezéséhez nem áll rendelkezésünkre elegendő információ, de feltételezésünk szerint abban szerepet játszhat a komplex és az adenintartalmú szubsztrátok bázis része közötti valamilyen kölcsönhatás is. A mechanizmussal kapcsolatban feltétlenül meg kell jegyezni, hogy szemben a korábbi fejezetben bemutatott bpdpo kétmagvú komplexével, a tdcí komplexek esetében rendkívül nagy különbség mutatkozik a ciklikus nukleotidokra illetve dinukleotidokra gyakorolt hatás között. (A biner rendszerekben a dinukleotidok hidrolízisére olyan lassú volt, hogy nem is tudtunk pontos sebességi együtthatót meghatározni.) A dinukleotidok hidrolízise során valószínűsíthető, hogy a fémionhoz kötött hidroxidion általános bázisként elősegíti a 2'OH (vagy 3'OH) hidroxilcsoportok deprotonálódását, melyet a ciklikus foszfátészter-intermedier kialakulása követ. Ehhez

természetesen hozzájárul a fémionok foszfátkoordinációjának Lewis-sav aktiváló hatása, mely a P–O-kötés polarizációját eredményezi. Nem tudjuk azonban megadni, hogy a két fémion eltérő tulajdonságainak milyen szerepe lehet a hidrolízisben. A ciklikus nukleotidok hidrolízise során erősen valószínűsíthető a hidroxidion közvetlen nukleofil támadása a foszforatomon, ami a drasztikus gyorsulásbeli különbségeket is magyarázza a dinukleotidokhoz képest.

A tdcu–réz(II)–cink(II) terner rendszer látványos példát jelent arra, hogy az eltérő sajátosságú fémionok együttes jelenléte és kooperációja jelentősen elősegítheti foszfátészterek hidrolízisét.

6. Összefoglalás

Munkánk során proteinek fémkötőhelyeinek modelljeiként kis molekulatömegű ligandumok réz(II)-, cink(II)- illetve dimetil-ón(IV)ionokkal képzett komplexeit tanulmányoztuk. A vizsgált vegyületek dipeptidek vagy peptidszármazékok (glicil-*L*-aszparaginsav, *L*-aszpartilglicin, szalicil-glicin), egy 1,3,5-tridezoxi-1,3,5-triamino-inozitol származék illetve kutatócsoportunk több éve folyó kutatásaihoz is kapcsolódva, imidazol- vagy az ahhoz sok szempontból hasonló piridingyűrűt tartalmazó ligandumok voltak. A legtöbb tanulmányozott rendszerben egyensúlyi- és oldatszerkezet-vizsgálatokkal meghatároztuk a vizsgált pH-tartományban képződő komplexek összetételét, és javaslatot tettünk azok szerkezetére vonatkozóan is. Néhány esetben az oldatbeli feltételezett szerkezeteket a sikeresen előállított egykristályok röntgenkrisztallográfiás vizsgálatának eredményeivel is sikerült alátámasztanunk. Számos modellrendszerben kinetikai vizsgálatokat folytattunk a képződő komplexek aktivált és nemaktivált foszfátészterek hidrolízisére gyakorolt hatásának megállapítására. Pszeudo elsőrendű sebességi együtthatókat határoztunk meg a pH és az alkalmazott fém-ligandum arány függvényében, melyek segítségével a legtöbb esetben megneveztük a hidrolízist elősegítő aktív komplexet. Az adatok alapján megkíséreltük a tanulmányozott folyamatok formálkinetikai leírását.

A csak imidazolgyűrűket tartalmazó TRIM és TIM ligandumok nagy stabilitású, különböző protonáltsági állapotú mono- és biszkomplexeke képeznek réz(II)- és cink(II)ionokkal. A TIM-réz(II) rendszerben csak monokomplexeke detektáltunk. A törzskomplexe kialakulását követő deprotonálódási folyamatok csapadékleválást eredményeznek, amely a magasabb pH-kon történő vizsgálatokat meggátolja. A cink(II) mono- és biszkomplexében a ligandum egyaránt három foggal koordinálódik a fémionhoz, azonban konformációjuk a ZnL és ZnL_2 komplexekben eltérő. Ez tetraéderes geometriát eredményez a monokomplexben, míg a biszkomplex szerkezete oktaéderes. A réz(II)ion esetében a második ligandum kétfogú koordinációja feltételezhető, mely a tetragonális geometria torzulását eredményezi. Tanulmányoztuk a cink(II)tartalmú biner rendszerek kölcsönhatását *L*-ciszteinnel is. A pH-metriás és NMR-mérések jelentős mennyiségű vegyesligandumú komplex képződését mutatták. A turner komplexekben a TRIM illetve TIM ligandumok imidazolnitrogénjei mellett a cisztein amino- és tiolátcsoportja révén kétfogúként koordinálódik a cink(II)ionhoz.

A pyrdiam és imhm ligandumok ugyancsak nagy stabilitású mono- és biszkomplexeke képeznek a két átmenetifémionnal. A réz(II)iont tartalmazó oldatokban, az előbbi ligandumokkal ellentétben, nem válik le csapadék a CuL komplexet követő deprotonálódási folyamatok során. Ezen folyamat révén hidroxovegyesligandumú monokomplex képződik a pyrdiam ligandum esetében, míg ESR-spektroszkópiás méréseink dihidroxohidas kétmagvú komplex jelenlétét jelezték az imhm-réz(II) rendszerben. A pyrdiam bisz-réz(II)- és cink(II)komplexei között a TRIM-hez hasonló különbség feltételezhető (5 illetve 6 nitrogéndonor koordinációja). Ugyanakkor az imhm szerkezete {5,6} csatolt kelátgyűrű kialakulását teszi lehetővé a komplexekben, melynek révén (spektrofotometriás eredményeink alapján) feltételezhető a 6 nitrogéndonor koordinációja a réz(II)ion biszkomplexében is.

A bimido ligandum kétmagvú komplexek kialakítására képes centrális 2-hidroxi-propilcsoportja révén. A réz(II)- és cink(II)ionokkal végzett mérések kiemelkedő stabilitású ML összetételű részecskék képződését mutatták ekvimoláris körülmények között széles pH-

tartományban. Az ML komplex deprotonálódása 9,5-ös (Zn(II)) illetve 11,1-es (Cu(II)) pK-val MLH_1 összetételű részecske kialakulásához vezet, melyekben a négy nitrogén mellett hidroxidion koordinálódik a cink(II)ionhoz, illetve réz(II) esetében az egyik imidazolgyűrű pirrolos nitrogénjének protonvesztése valószínűsíthető. Fémionfelesleg jelenlétében a réz(II)tartalmú oldatokban ESR-spektroszkópiás és spektrofotometriás vizsgálataink egyértelműen mutatták kétmagvú komplexek képződését semleges pH-tartományban. Ezt csak megerősíti a metanolos közegből difenil-foszfát jelenlétében előállított egykristály röntgenanalízise, mely μ -1,1-alkoholát- és μ -1,3-foszfáthíddal összekapcsolt réz(II)centrumokat mutatott a szilárd komplexben. A két fémion koordinációs geometriája is eltérő, az egyik réz(II) környezete torzult oktaéderes, míg a másik négyzetes piramisos környezetben helyezkedik el. A cink(II)tartalmú oldatokban elvégzett egyensúlyi és NMR-mérések egy 7,4-es pH körül kialakuló kétmagvú komplex jelenlétét mutatták. A 1H NMR-spektrumok alapján a Zn_2LH_2 összetételű komplex protonálódási izomerjeinek jelenléte feltételezhető, melyek aránya pH- és koncentrációfüggetlen. A lassú ligandumcseréjű alkoholáthidas izomer $Zn_2LH_1(OH)$, míg a gyors ligandumcseréjű komplex $Zn_2L(OH)_2$ összetétellel írható le helyesen. Ez utóbbiban a fémionokhoz a ligandum két-két nitrogéndonorja mellett egy-egy hidroxidion koordinálódik.

A bpdpo-réz(II) rendszer egyensúlyi vizsgálatai nagy stabilitású CuL összetételű komplex képződését mutatták ekvimoláris oldatban. A komplex szerkezetének jellemzését spektrofotometriás és ESR-mérésekkel végeztük, de a négy nitrogéndonor ekvatoriális koordinációjával kialakuló szerkezetet metanolos közegből előállított egykristály röntgen-diffrakciós vizsgálatával is sikerült alátámasztanunk. Fémionfelesleget tartalmazó oldatokban a CuL komplexet követően egy kétmagvú részecske képződik, melyhez két erősen kooperatív jellegű deprotonálódási folyamat vezet. A Cu_2LH_2 komplex 50 %-os képződésének pH-ja $\sim 6,25$, mely több, mint egy logaritmus egységgel alacsonyabb, mint az azonos bruttó összetételű cink(II)-bimido komplexé. A komplex szerkezete annak ESR-, spektrofotometriás és röntgenvizsgálata alapján hasonlóságot mutat a bimido alkoholáthidas kétmagvú komplex-izomerjével.

A Gly-Asp, Asp-Gly és Sal-Gly ligandumokat illetve dimetil-ón(IV)iont tartalmazó oldatokban csaknem azonos összetételű komplexek képződését tapasztaltuk. Savas tartományban természetesen különbséget jelent a második karboxilátcsoporthiánya a Sal-Gly ligandumban. A karboxilátcsoporthiányával gyors ligandumcseréjű komplexek képződnek a 2–5 pH-tartományban. A két karboxilát egyidejű koordinációja révén stabilabb kelátgyűrű kialakítására képes a Gly-Asp, mint az Asp-Gly, amely az ML részecskék kialakulásához vezető folyamat eltérő pK-értékeiben is megmutatkozik. Semleges pH-tartományban mindhárom ligandum esetében MLH_1 összetételű komplexek képződnek, melyekben a ligandumcsere az NMR-időskálán lassú. Ezt új jelcsoportok megjelenése jelzi az NMR-spektrumokon. Az elvégzett részletes 1H és ^{13}C NMR-vizsgálatok alapján megállapítható, hogy az MLH_1 komplex szerkezete mindhárom ligandum esetében trigonális bipiramis, és a fémionhoz terminális karboxilátcsoporthiányával, deprotonálódott amidnitrogén és amino- (illetve fenolos hidroxil) csoportok koordinálódnak. Az MLH_1 részecske kialakulása olyan összetett folyamattal írható le, melyben a karboxilátcsoporthiány játsza a horgony szerepet, elősegítve az amidnitrogén és az amino- vagy fenolos hidroxilcsoport kooperatív deprotonálódását. A ligandum kötődésének erősségét a főként ionos karakterű

Sn^+-OOC és a főként kovalens $\text{Sn}-\text{N}^-$ kötések szabályozzák, míg a másik terminális csoport és az oldallánci csoportok szerepe kevésbé (vagy nem) meghatározó.

Az egyensúlyi és oldatszerkezeti vizsgálatokkal jellemzett komplexek különböző foszfátészterekkel szembeni hidrolitikus tulajdonságait is tanulmányoztuk.

A TRIM és TIM ligandumokat tartalmazó rendszerekben a korai, törzskomplexek képződését követő csapadékleválás meggátolta kinetikai vizsgálatok elvégzését. A pyrdiam - réz(II) rendszerben képződő $\text{ML}(\text{OH})$ komplex szerény aktivitást mutatott a hpnp szubsztrát hidrolízise során. Az imhm dihidroxó-hidas réz(II)komplexe a fémionok túlságosan telített koordinációs szférája miatt nem képes a foszfoészterek hidrolízisét elősegíteni.

A bimido - réz(II) illetve -cink(II) rendszerben képződő $\text{M}_2\text{LH}_{-1}(\text{OH})$ komplex hatékonynak bizonyult mind az aktivált észter hpnp, mind a ciklikus nukleotid cUMP hidrolízise során. A pH-függő kinetikai mérések a pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók növekedését mutatták, párhuzamosan az $\text{M}_2\text{LH}_{-1}(\text{OH})$ komplex képződésével. A cink(II) esetében megfigyelt aktivitás többszöröse a réz(II)-nél tapasztaltnak. A telítési kinetikai mérések alapján meghatározott állandók (K_{ass} , K_{M}) nem utalnak speciális kölcsönhatásra a komplex és a hpnp szubsztrát között, ugyanakkor a katalitikus sebességi együttható értéke alapján az aktív részecske egyike az eddig ismert legaktívabb kétmagvú cink(II)komplexeknek. A cUMP hidrolízise során az autohidrolízisre vonatkoztatott sebességnövekedés 10-20000-szeres. A k_{obs} vs. pH függvényen pH~7,5 felett tapasztalt plató (széles maximum) arra utal, hogy a hpnp hidrolízise során a fémionhoz kötött hidroxidion a nukleofil reaktáns, mely általános bázisként elősegíti a 2-hidroxi-propilcsoport deprotonálódását, miközben a szubsztrát μ -1,3-hidas koordinációja a fémionokhoz a foszfátészter kettős Lewis-sav aktiválását eredményezi. Az aktív komplex nem azonos mértékben gyorsította a cUMP és UpU hidrolízisét. A szubsztrátok autohidrolízisére vonatkoztatott sebességnövekedés 10-15-ször nagyobb cUMP esetében. Ez a különbség nem olyan jelentős, melynek alapján feltételeznünk kellene, hogy a fémionhoz kötött hidroxidion hajtja végre a nukleofil támadást a foszforatomon (direkt nukleofil katalízis). Ennek értelmében a folyamat mechanizmusa valószínűleg hasonló a hpnp-nél tárgyalthoz, azaz a fémionhoz kötött hidroxidion általános bázisként elősegíti a támadást végrehajtó vízmolekula deprotonálódását.

A bpdpo-réz(II) rendszer rendkívül hatékonyan hidrolizálta a tanulmányozott hpnp, cUMP és UpU szubsztrátokat. A pH- és fém-ligandum arány változtatásával végzett mérések igazolták, hogy a kétmagvú $\text{Cu}_2\text{LH}_{-1}(\text{OH})$ komplex felelős az aktivitásért. A hpnp átészterezése katalitikus folyamat, az aktivitás számottevő csökkenése nélkül négy katalitikus ciklust detektáltunk. Az aktív komplex öt nagyságrenddel gyorsította a cUMP, és ~négy nagyságrenddel az UpU hidrolízisét. A folyamat mechanizmusában, a bimido komplexeihez hasonlóan, nagy szerepe van a két fémion kooperatív működésének és az általuk kialakított kettős Lewis-sav aktiválásnak. A hpnp és UpU hasításának mechanizmusa feltételezhetően azonos, a hidroxidion általános bázisként elősegíti a 2-hidroxi-propil- ill. 2'-OH csoport deprotonálódását. cUMP esetében nem zárható ki a közvetlen nukleofil támadás sem, azonban a cUMP-re és UpU-ra vonatkozó sebességnövekedésben nincs akkora különbség, melynek alapján alapvető mechanizmus-különbséget kellene feltételeznünk.

A tdcí-réz(II) rendszerben képződő $\text{Cu}_2\text{LH}_{-3}$ összetételű komplex hatékonyan hidrolizálta a vizsgálatokhoz használt ciklikus nukleotidokat. A folyamat során jelentős bázisszelektivitást tapasztaltunk az adenozin származék javára. A cUMP hasítása során ugyanakkor kiemelkedő

regioszelektivitás tapasztalható, mely a 3'UMP termék képződését teszi kedvezményezetté. A komplex nem képes elősegíteni a dinukleotidok hidrolízisét. Ez a tény, valamint a ciklikus nukleotidokra vonatkozó jelentős k_2 értékek felvetik annak lehetőségét, hogy a fémionhoz kötött hidroxidion nem általános bázisként, hanem közvetlen nukleofilként működik a folyamat katalízise során. A tdcu-réz(II)-cink(II) terner rendszer a biner rendszereknél is csaknem egy nagyságrenddel gyorsabban hasította a ciklikus nukleotidokat. Emellett hatékonynak mutatkozott öt különböző dinukleotid hidrolízise során is. A 3'5'- és 2'5'-ApA dinukleotid-izomerek hidrolízise jelentősen eltérő sebességgel játszódik le a terner rendszerben. Előbbi féléletidejét az aktív komplex(ek) 3,4 évről 13 órára csökkentette. Mind a biner rendszer kapcsán tapasztalt bázisszelektivitásban, mind a dinukleotidizomereknél megfigyelt sebességkülönbségben szerepe lehet az aktív komplex és a szubsztrát bázis része közötti valamilyen kölcsönhatásnak is. A terner rendszer látványos példát jelent arra, hogy az eltérő sajátosságú fémionok együttes jelenléte és kooperációja jelentősen elősegítheti foszfátészterek hidrolízisét.

8. Irodalomjegyzék

- 1 H.B. Gray, *Bioinorganic Chemistry*, Chapter 6., ed. I. Bertini, H.B. Gray, S.J. Lippard, J.S. Valentine, University Science Books, Mill Valley, California, 1994.
- 2 G.B. Jameson, J.A. Ibers, *Bioinorganic Chemistry*, Chapter 4., ed. I. Bertini, H.B. Gray, S.J. Lippard, J.S. Valentine, University Science Books, Mill Valley, California, 1994.
- 3 I. Bertini, C. Luchinat, *Bioinorganic Chemistry*, Chapter 2., ed. I. Bertini, H.B. Gray, S.J. Lippard, J.S. Valentine, University Science Books, Mill Valley, California, 1994.
- 4 I. Török, T. Gajda, B. Gyurcsik, G.K. Tóth, A. Péter, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1998, 1205-1212.
- 5 G. Anderegg, E. Hubmann, N.G. Podder, F. Wenk, *Helv. Chim. Acta*, 1977, 60, 123-140.
- 6 R.W. Hay, T. Clifford, P. Lightfoot, *Polyhedron*, 1998, 17, 4347-4352.
- 7 C. Jubert, A. Mohamadou, J. Marrot, J-P. Barbier, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2001, 1230-1238.
- 8 R.G. Lacoste, A.E. Martell, *Inorg. Chem.*, 1964, 3, 881-884.
- 9 C.C. Tang, D. Davalian, P. Huang, R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100, 3918-3922.
- 10 H. Nie, S.M.J. Aubin, M.S. Mashura, R.P. Porter, J.F. Richardson, D.N. Hendrickson, R.M. Buchanan, *Inorg. Chem.*, 1996, 35, 3325-3334.
- 11 S.J. Brudenell, L. Spiccia, D.C.R. Hockless, E.R.T. Tiekink, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1999, 1475-1481.
- 12 I. Török, P. Surdy, A. Rockenbauer, L. Korecz, G.J. Anthony, A. Koolhaas, T. Gajda, *J. Inorg. Biochem.*, 1998, 71, 7-14.
- 13 H. Adams, N.A. Bailey, D.E. Fenton, Q. He, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1996, 2857-2865.
- 14 M. Suzuki, H. Kanatomi, H. Koyama, I. Murase, *Inorg. Chim. Acta*, 1980, 44, L41-L42.
- 15 K. Takahashi, E. Ogawa, N. Oishi, Y. Nishida, S. Kida, *Inorg. Chim. Acta*, 1982, 66, 97-103.
- 16 F.A. Chavez, M.M. Olmstead, P.K. Mascharak, *Inorg. Chem.*, 1996, 35, 1410-1412.
- 17 K. Várnagy, I. Sóvágó, K. Ágoston, H. Süli-Vargha, D. Sanna, G. Micera, *J. Inorg. Biochem.*, 2000, 81, 35-41.
- 18 K. Várnagy, I. Sóvágó, K. Ágoston, Zs. Likó, H. Süli-Vargha, D. Sanna, G. Micera, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1994, 2939-2945.
- 19 C. Place, J.-L. Zimmermann, E. Mulliez, G. Guillot, C. Bois, J.-C. Chottard, *Inorg. Chem.*, 1998, 37, 4030-4039.
- 20 G. Arena, R.P. Bonomo, S. Musumeci, R. Purrello, E. Rizzarelli, S. Sammartano, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1983, 1279-1283.
- 21 R.H. Holzer, C.D. Hubbard, S.F.A. Kettle, R.G. Wilkins, *Inorg. Chem.*, 1966, 5, 622-625.
- 22 A. Odani, H. Masuda, K. Inukai, O. Yamauchi, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 6294-6300.
- 23 J.J.R. Frausto da Silva, R.J.P. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements*, Chapter 11. and 21., Oxford University Press, Oxford, Great Britain, 1991.
- 24 J.J.R. Frausto da Silva, R.J.P. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements*, Chapter 15., Oxford University Press, Oxford, Great Britain, 1991.
- 25 J.P. Klinman, *Chem. Rev.*, 1996, 96, 2451-2561.
- 26 J.S. Valentine, *Bioinorganic Chemistry*, Chapter 5., ed. I. Bertini, H.B. Gray, S.J. Lippard, J.S. Valentine, University Science Books, Mill Valley, California, 1994.
- 27 J.K. Barton, *Bioinorganic Chemistry*, Chapter 8., ed. I. Bertini, H.B. Gray, S.J. Lippard, J.S. Valentine, University Science Books, Mill Valley, California, 1994.
- 28 W.N. Lipscomb, N. Sträter, *Chem. Rev.*, 1996, 96, 2375-2433.
- 29 T. Gajda, B. Henry, J.-J. Delpuech, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1994, 157-164.
- 30 T. Gajda, B. Henry, J.-J. Delpuech, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1992, 2313-2319.
- 31 T. Gajda, B. Henry, J.-J. Delpuech, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1993, 1301-1306.
- 32 T. Gajda, B. Henry, J.-J. Delpuech, *Inorg. Chem.*, 1995, 34, 2455-2460.
- 33 I. Sóvágó, E. Farkas, A. Gergely, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1982, 2159-2163.
- 34 T.P.A. Kruck, S.-J. Lau, B. Sarkar, *Can. J. Chem.*, 1976, 54, 1300.
- 35 N. Cameran, A. Cameran, B. Sarkar, *Can. J. Chem.*, 1976, 54, 1309.
- 36 T. Gajda, B. Henry, J.-J. Delpuech, *Inorg. Chem.*, 1996, 35, 586-593.
- 37 K. Várnagy, J. Szabó, I. Sóvágó, G. Malandrimos, N. Hadjiliadis, D. Sanna, G. Micera, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2000, 467-472.
- 38 B. Gyurcsik, I. Vosekalna, E. Larsen, *Acta Chem. Scand.*, 1997, 51, 49-58.
- 39 I. Sóvágó, Gy. Petőcz, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1987, 1717-1720.

- 40 A. Yokoyama, H. Aiba, H. Tanaka, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1974, 47, 112-120.
- 41 P. Gockel, R. Vogler, H. Vahrenkamp, *Chem. Ber.* 1996, 129, 887-895.
- 42 I. Sóvágó, E. Farkas, Cs. Bertalan, A. Lebkiri, T. Kowalik-Jankowska, H. Kozłowski, *J. Inorg. Biochem.*, 1993, 51, 715-726.
- 43 B. Radomska, T. Kiss, I. Sóvágó, *J. Chem. Research (S)*, 1987, 156-157.
- 44 A. Beck, B. Weibert, N. Burzlaff, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2001, 521-527.
- 45 E.I. Solomon, U.M. Sundaram, T.E. Machonkin, *Chem. Rev.*, 1996, 96, 2563-2605.
- 46 S-M. Ku, C-Y. Wu, C.K. Lai, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2000, 3491-3492.
- 47 V. McKee, M. Zvagulis, J.V. Dagdigan, M. G. Patch, C.A. Reed, *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, 106, 4765-4772.
- 48 R. Than, A.A. Feldmann, B. Krebs, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, 182, 211-241.
- 49 P. Li, N.K. Solanki, H. Ehrenberg, N. Feeder, J.E. Davies, J.M. Rawson, M.A. Halcrow, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2000, 1559-1565.
- 50 D.P. Miller, P.J. Craig, "The analysis of organotin compounds from the natural environment", *Chemistry of Tin*, ed. P.J. Smith, Blackie Academic & Professional, London, 1998, p. 541.
- 51 N.J. Snoei, A.H. Penninks, W. Seinen, *Environmental Research*, 1987, 44, 335-353.
- 52 A.J. Crowe in *Metal-Based Antitumour Drugs* ed. M. Gielen, Freund, London, 1989, 1, 103-149.
- 53 A.K. Saxena, F. Huber, *Coord. Chem. Rev.*, 1989, 95, 109-123.
- 54 J.M. Tsangaris, D.R. Williams, *Appl. Organomet. Chem.*, 1992, 6, 3-18.
- 55 M. Gielen, P. Lelieveld, D. de Vos, R. Willem, *Main Group Met. Chem.*, 1993, 16, 29-54.
- 56 M. Gielen, *Coord. Chem. Rev.*, 1996, 151, 41-51.
- 57 R. Barbieri, A. Silvestri, V. Piro, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1990, 3605-3609.
- 58 R. Barbieri, A. Silvestri, A.M. Giuliana, V. Piro, F. Di Simone, G. Madonia, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1992, 585-590.
- 59 Q. Li, P. Yang, H. Wang, M. Guo, *J. Inorg. Biochem.*, 1996, 64, 181-195.
- 60 A. Jancsó, L. Nagy, E. Moldrheim, E. Sletten, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1999, 1587-1594.
- 61 L. Ghys, M. Biesemans, M. Gielen, A. Garoufis, N. Hadjiliadis, R. Willem, J.C. Martins, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2000, 513-522.
- 62 M. Nath, S. Pokharia, R. Yadav, *Coord. Chem. Rev.*, 2001, 215, 99-149.
- 63 T. Natsume, S-i. Aizawa, K. Hatano, S. Funahashi, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1994, 2749-2753.
- 64 N. Buzás, T. Gajda, L. Nagy, E. Kuzmann, A. Vértess, K. Burger, *Inorg. Chim. Acta*, 1998, 274, 167-176.
- 65 P. Surdy, P. Rubini, N. Buzás, B. Henry, L. Pellerito, T. Gajda, *Inorg. Chem.*, 1999, 38, 346-352.
- 66 G. Arena, R. Purello, E. Rizzarelli, A. Gianguzza, L. Pellerito, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1989, 773-777.
- 67 N. Buzás, B. Gyurcsik, L. Nagy, Y-x. Zhang, L. Korecz, K. Burger, *Inorg. Chim. Acta*, 1994, 218, 65-71.
- 68 L. Pellerito, M.T. LoGiudice, G. Ruisi, N. Bertazzi, R. Barbieri, F. Huber, *Inorg. Chim. Acta*, 1976, 17, L21-L22.
- 69 R. Barbieri, L. Pellerito, F. Huber, *Inorg. Chim. Acta*, 1978, 30, L321-L323.
- 70 G. Ruisi, A. Silvestri, M.T. Lo Giudice, R. Barbieri, G. Atassi, F. Huber, K. Grätz, L. Lamartina, *J. Inorg. Biochem.*, 1985, 25, 229-245.
- 71 G. Ruisi, M.T. Lo Giudice, *Appl. Organomet. Chem.*, 1991, 5, 385-391.
- 72 G. Guli, G. Gennaro, L. Pellerito, G.C. Stocco, *Appl. Organomet. Chem.*, 1993, 7, 407-412.
- 73 M.A. Girasolo, L. Pellerito, G. C. Stocco, G. Valle, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1996, 1195-1201.
- 74 M.A. Girasolo, G. Guli, L. Pellerito, G.C. Stocco, *Appl. Organomet. Chem.*, 1993, 9, 241-250.
- 75 G. Ruisi, M.T. Lo Giudice, F. Huber, M. Vornfeld, *Appl. Organomet. Chem.*, 1993, 10, 779-790.
- 76 F. Capolongo, A.M. Giuliani, M. Giomini, U. Russo, *J. Inorg. Biochem.*, 1993, 49, 275-293.
- 77 R. Barbieri, M.T. Musumeci, *J. Inorg. Biochem.*, 1988, 32, 89-108.
- 78 N. Buzás, T. Gajda, E. Kuzmann, L. Nagy, A. Vértess, K. Burger, *Main Group Met. Chem.*, 1995, 18, 641-649.
- 79 J. Chin, M. Banaszczuk, V. Jubian, X. Zou, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111, 186-190.
- 80 R. Häner, J. Hall, *Antisense & Nucleic Acid Drug Development*, 1997, 7, 423-430.
- 81 M. Oivanen, H. Lönnberg, *Trends in Org. Chem.*, 1991, 2, 183-198.
- 82 D.E. Wilcox, *Chem. Rev.*, 1996, 96, 2435-2458.
- 83 D. Gani, J. Wilkie, *Structure and Bonding*, 1997, 89, 133-175.

- 84 K. Katanayagi, M. Ishikawa, M. Okumura, M. Ariyoshi, S. Kanaya, Y. Kawano, M. Suzuki, I. Tanaka, K. Morikawa, *J. Biol. Chem.*, 1993, 268, 22092.
- 85 S. Linskog, A. Liljas, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 1993, 3, 915.
- 86 H-W. Huang, J.A. Cowan, *Eur. J. Biochem.*, 1994, 219, 253.
- 87 D.L. Ollis, P. Brick, R. Hamlin, N.G. Xuong, T.A. Steitz, *Nature* 1985, 313, 762.
- 88 L. Beese, T.A. Steitz, *EMBO J.*, 1991, 10, 25.
- 89 N. Sträter, T. Klabunde, P. Tucker, H. Witzel, B. Krebs, *Science* 1995, 268, 1489.
- 90 T. Klabunde, N. Sträter, R. Frölich, H. Witzel, B. Krebs, *J. Mol. Biol.*, 1996, 259, 737.
- 91 Gajda T., *Acta. Pharm. Hum.*, 2000, 109-118.
- 92 J. Goldberg, H.B. Huang, Y-G. Kwon, P. Greengard, A.C. Nairn, J. Kuriyan, *Nature*, 1995, 376, 745.
- 93 T.D. Tullius (ed), *Metal-DNA Chemistry*, Amer. Chem. Soc., Washington, DC, 1989.
- 94 D.S. Sigman, A. Mazumder, D.M. Perrin, *Chem. Rev.*, 1993, 93, 2295-2316.
- 95 K. Matsumura, M. Komiyama, *J. Biochem.*, 1997, 122, 387-394.
- 96 S. Kuusela, H. Lönnberg, "Effect of Metal Ions on the Hydrolytic Reactions of Nucleosides and Their Phosphoesters" in *Metals In Biological Systems*, Vol. 32, pp.: 271-300., ed. A. Sigel and H. Sigel, Marcel Dekker Inc., New York, 1996.
- 97 S. Kuusela, H. Lönnberg, *Current Topics in Solution Chemistry*, 1997, 2, 29-47.
- 98 S. Kuusela, H. Lönnberg, *J. Phys. Org. Chem.*, 1992, 5, 803-811.
- 99 S. Kuusela, H. Lönnberg, *J. Phys. Org. Chem.*, 1993, 6, 347-356
- 100 S. Kuusela, H. Lönnberg, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1994, 2301-2306.
- 101 R. Krämer, T. Gajda, *Perspectives on Bioinorganic Chemistry*, Vol. 4., ed.: R.W. Hay, J.R. Dilworth, K. Nolan, JAI Press Inc., 1999, pp. 207-240.
- 102 N.H. Williams, B. Takasaki, M. Wall, J. Chin, *Acc. Chem. Res.*, 1999, 32, 485-493.
- 103 R. Krämer, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, 182, 243-261.
- 104 E.L. Hegg, J.N. Burstyn, *Coord. Chem. Rev.*, 1998, 173, 133-165.
- 105 J. R. Morrow, W.C. Trogler, *Inorg. Chem.*, 1988, 27, 3387-3394.
- 106 H. Sigel, R.B. Martin, *Chem. Soc. Rev.*, 1994, 83.
- 107 L.A. Jenkins, J.K. Bashkin, J.D. Pennock, J. Florián, A. Warshel, *Inorg. Chem.*, 1999, 38, 3215-3222.
- 108 B. Linkletter, J. Chin, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1995, 34, 472-474.
- 109 T. Koike, E. Kimura, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, 113, 8935-8941.
- 110 E.L. Hegg, S.H. Mortimore, L.C. Chin, J.E. Huyett, D.R. Powell, J.N. Burstyn, *Inorg. Chem.*, 1999, 38, 2961-2968.
- 111 T. Itoh, H. Hisada, Y. Usui, Y. Fujii, *Inorg. Chim. Acta*, 1998, 283, 51-60.
- 112 E. Kimura, Y. Kodama, T. Koike, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, 117, 8304-8311.
- 113 J.R. Morrow, K. Aures, D. Epstein, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1995, 2431-2432.
- 114 S. Amin, J.R. Morrow, C.H. Lake, M.R. Churchill, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1994, 33, 773-775.
- 115 M. Yashiro, A. Ishikubo, M. Komiyama, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1995, 1793-1794.
- 116 J. Kamitani, R. Kawahara, M. Yashiro, M. Komiyama, *Chem. Lett.*, 1998, 1047-1048.
- 117 T. Koike, M. Inoue, E. Kimura, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, 3091-3099.
- 118 M. Wall, R.C. Hynes, J. Chin, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1993, 32, 1633-1635.
- 119 M.J. Young, J. Chin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, 117, 10577-10578.
- 120 P. Molenveld, J.F.J. Engbersen, H. Kooijman, A.L. Spek, D.N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, 120, 6726-6737.
- 121 S. Liu, Z. Luo, A.D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1997, 36, 2678-2680.
- 122 M. Yashiro, A. Ishikubo, M. Komiyama, *Chem. Commun.*, 1997, 83-84.
- 123 P. Hurst, B.K. Takasaki, J. Chin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, 9982-9983.
- 124 J.K. Bashkin, E.I. Frolova, U.S. Sampath, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 116, 5981-5982.
- 125 J. Hall, D. Hüsken, U. Piesles, H.E. Moser, R. Häner, *Chem. Biol.*, 1994, 1, 185.
- 126 A. Sreedhara, A. Patwardhan, J.A. Cowan, *Chem. Commun.*, 1999, 1147-1148.
- 127 A. Sreedhara, J.A. Cowan, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2001, 6, 166-172.
- 128 F.J.C. Rosotti and H. Rosotti, *The determination of stability constants*, McGraw-Hill Book Co., New York, 1962, p. 149.
- 129 E. Högfeldt, in *Stability Constants of Metal-Ion Complexes, Part A. Inorganic Ligands*, Pergamon, New York, 1982, p. 32.
- 130 L. Zékány, I. Nagypál, in *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*, ed. D.J. Leggett, Plenum, New York, 1991.

- 131 R.G. Bates, M. Paabo, R.A. Robinson, *J. Phys. Chem.*, 1963, 67, 1833.
- 132 D.D. Perrin, B. Dempsey in *Buffers for pH and Metal Ion Control*, Chapman Hall, New York, 1987, pp.: 77-93.
- 133 E.M. Wooley, D.G. Hurkot, L.G. Hepler, *J. Phys. Chem.*, 1970, 74, 3908-3916.
- 134 A. Rockenbauer, L. Korecz, *Appl. Magn. Reson.*, 1996, 10, 29.
- 135 G.M. Bancroft, V.G. Kumar Das, Ts.K. Sham, M.G. Clark, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1976, 643-654.
- 136 M.G. Clark, A.G. Maddock, R.H. Platt, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1972, 281-290.
- 137 L. Korecz, A.A. Saghier, K. Burger, A. Tzschach, K. Jukschat, *Inorg. Chim. Acta* 1982, 58, 243-249.
- 138 G.M. Scheldrick, *SHELXS-86, Program for Crystal Structure Solution*; Universität Göttingen, 1986.
- 139 G.M. Scheldrick, *SHELXL-97, Program for Crystal Structure Refinement*; Universität Göttingen, 1997.
- 140 E. Mulliez, *Tetrahedron Lett.*, 1989, 30, 6169-6172.
- 141 W. Mazurek, K.J. Berry, K.S. Murray, M.J. O'Connor, M.R. snow, A.G. Wedd, *Inorg. Chem.*, 1982, 21, 3071-3080.
- 142 E.J. Billo, *J. Inorg. Nucl. Chem. Lett.*, 1974, 10, 613-617.
- 143 R. Chrichton, in *Inorganic Biochemistry of Iron Metabolism*, ed. J. Burgess, Ellis Horwood, Chichester, UK, 1991.
- 144 D.D. Perrin, I.G. Sayce, *J. Chem. Soc. A*, 1968, 53-57.
- 145 I. Sóvágó, A. Gergely, B. Harman, T. Kiss, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1979, 41, 1629-1633.
- 146 G. Berthon, P.M. May, D.R. Williams, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1978, 1433-1438.
- 147 E. Prenesti, P.G. Daniele, M. Prencipe, G. Ostacoli, *Polyhedron*, 1999, 3233-3241.
- 148 D.W. Gruenwedel, *Inorg. Chem.*, 1968, 7, 495-501.
- 149 D.C. Weatherburn, E.J. Billo, J.P. Jones, D.W. Margerum, *Inorg. Chem.*, 1970, 9, 1557-1559.
- 150 P. Huber, R. Griessen, H. Sigel, *Inorg. Chem.*, 1971, 10, 945-947.
- 151 V. Clementi, C. Luchinat, *Acc. Chem. Res.*, 1998, 31, 351-361.
- 152 M. Handa, T. Idehara, K. Nakano, K. Kasuga, M. Mikuriya, N. Matsumoto, M. Kodera, S. Kida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1992, 65, 3241-3252.
- 153 A. Gergely, E. Farkas, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1982, 381-386.
- 154 T. Kiss, K. Petrohan, P. Buglyo, D. Sanna, G. Micera, J. Costa Pessoa, C. Madeira, *Inorg. Chem.*, 1998, 37, 6389-6391.
- 155 E.B. Gonzales, N.N. Daeid, K.B. Nolan, E. Farkas, *Polyhedron*, 1994, 13, 1495-1499.
- 156 G. Arena, R. Cali, A. Contino, A. Musumeci, S. Musumeci, R. Purello, *Inorg. Chim. Acta*, 1995, 237, 187-191.
- 157 T.P. Lockhart, W.F. Manders, *Inorg. Chem.*, 1986, 25, 892-895.
- 158 T.P. Lockhart, W.F. Manders, J.J. Zuckerman, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, 107, 4546-4547.
- 159 J. Holeček, A. Lycka, *Inorg. Chim. Acta*, 1986, 118, L15-L17.
- 160 R. Barbieri, G. Alonzo, A. Silvestri, N. Burriesci, N. Bertazzi, G.C. Stocco, L. Pellerito, *Gazz. Chim. It.*, 1974, 104, 885-893.
- 161 L.D. Pettit, H.K.J. Powell, *The IUPAC Stability Constants Database*, Academic Software, IUPAC and Royal Society of Chemistry, London, 1992-1997.
- 162 B. Gyurcsik, N. Buzás, T. Gajda, L. Nagy, E. Kuzmann, A. Vértes, K. Burger, *Z. Naturforschung*, 1995, 50b, 515-523.
- 163 D. Wahnnon, R.C. Hynes, J. Chin, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1994, 1441-1442.
- 164 N.H. Williams, J. Chin, *Chem. Commun.*, 1996, 131-132.
- 165 J.S. Seo, N.-D. Sung, R.C. Hynes, *J. Chin, Inorg. Chem.*, 1996, 35, 7472-7473.
- 166 H.I. Abrash, C.-C.S. Cheung, C. Davis, *Biochemistry*, 1967, 6, 1298-1308.
- 167 P. Molenveld, J.F. Engbersen, D.N. Reinhoudt, *J. Org. Chem.*, 1999, 64, 6337-6341.
- 168 P. Järvinen, M. Oivanen, H. Lönnberg, *J. Org. Chem.*, 1991, 56, 5396-5401.
- 169 S. Mikkola, E. Stenman, K. Nurmi, E. Yousefi-Salakdeh, R. Strömberg, H. Lönnberg, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1999, 1619-1625.
- 170 T. Gajda, Y. Düpre, I. Török, J. Harmer, A. Schweiger, J. Sander, D. Kuppert K. Hegetschweiler, *Inorg. Chem.*, 2001, 40, 4918-4927.
- 171 S. Albedyhl, M.T. Averbuch-Pouchot, C. Belle, B. Krebs, J.L. Pierre, E. Saint-Aman, S. Torelli, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2001, 1457-1464.
- 172 M. Irisawa, M. Komiyama, *J. Biochem.*, 1995, 117, 465-466.
- 173 P. Molenveld, J.F.J. Engbersen, D.N. Reinhoudt, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1999, 38, 3189-3192.

- 174 J.H. Satcher, Jr.M.W. Droegge, T.J.R. Weakley, R.T. Taylor, *Inorg. Chem.*, 1995, 34, 3317-3328.
- 175 Y. Nishida, S. Kida, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1986, 2633-2640.
- 176 S.T. Frey, N.M. Murthy, S.T. Weintraub, L.K. Thompson, K.D. Karlin, *Inorg. Chem.*, 1997, 36, 956-957.
- 177 T.P.E. Auf der Heyde, L.R. Nassimbeni, *Acta Crystallogr. Sect. B*, 1984, B40, 582-589.
- 178 N.W. Alcock, A. Berry, P. Moore, *Acta Crystallogr. Sect. C*, 1984, C48, 16-17.
- 179 E.E. Bernarducci, P.K. Bharadway, R.A. Lalancette, K. Krogh-Jespersen, J.A. Potenza, H.J. Schugar, *Inorg. Chem.*, 1983, 22, 3911-3920.
- 180 J.W. Yun, T. Tanase, S.J. Lippard, *Inorg. Chem.*, 1996, 35, 7590-7600.
- 181 R.S. Alexander, Z.F. Kanyo, L.S. Chirlian, D.W. Christianson, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, 112, 933-937.

Függelék

1. A $[Cu_2(bimidoH_2)(DPP)(ClO_4)(CH_3OH)]ClO_4 \cdot 0,5H_2O$ komplex előállítása, szerkezete és a röntgenszerkezet-elemzés kristallográfiás adatai

Előállítás: 66 mg (0,15 mmol) bimido $\cdot 4HCl$ ligandumot 5 ml vízmentes metanolban oldottunk, majd 6 ekvivalens mennyiségű metanolban oldott NaOH-ot, 32,7 mg (0,15 mmol) difenil-foszforsavat és 111,2 mg (0,3 mmol) $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ sót adtunk hozzá. Az oldatot 50 °C-ra melegítettük, majd óvatosan 2-3 ml-re bepároltuk. Lassú szobahőmérsékletre történő hűtést követően 2-3 nap elteltével mélykék kristályokat nyertünk. $C_{26}H_{36}Cl_2Cu_2N_6O_{14,5}P$ -re számítható: C 34,94, H 4,03, N 9,41. Mért: C 35,06, H 4,08, N 9,34 %.

A kristályszerkezet leírása: A komplex két megegyező kétmagvú fémcentrumos egységben, négy perkloráttal és cellaegységenként egy rács-víz-molekulával kristályosodik. A kristályszerkezet a 45. ábrán látható, a jellemző kötéstávolságok és kötésszögek az F1., a kristallográfiás adatok az F2. táblázatban vannak összefoglalva. A kétmagvú komplex két különálló réz(II)centrumból épül fel, az egyik ötös (4+1) koordinációs számú, a másik hatos (4+2). A két fémiot kettős híd, az alkoxid-oxigén és a DPP foszfátcsoportja kapcsolja össze. Az ötös koordinációs számú Cu(2) enyhén torzult négyzetes piramisos geometriájú. Cu(2) bazális síkját a bimido N(4), N(5) és O(1) atomjai valamint a DPP O(3) atomja alkotják, míg egy nemdeprotonálódott metanol oxigén koordinálódik axiális pozícióban (Cu–O = 2,359 Å). A hatos koordinációjú Cu(1) tetragonális síkjában hasonló donoratombok helyezkednek el (N(2), N(3), O(1) és O(2), de mindkét axiális pozíciót gyengén kötött perklorát oxigének foglalják el (Cu–O ~ 2,54 Å). Ennek eredményeként a $Cl(1)O_4^-$ perklorátion két szomszédos kétmagvú komplexet hídként kapcsol össze, melynek révén végtelen láncot képez a kristályban.

F1. táblázat: Jellemző kötésszögek (°) illetve kötéstávolságok (Å) (zárójelben az utolsó tizedes jegyekre vonatkozó hibákkal) a $[Cu_2(bimidoH_2)(DPP)(ClO_4)(CH_3OH)]ClO_4 \cdot 0,5H_2O$ komplexben

Cu(1)–O(1)	1,901(4)	Cu(2)–O(1)	1,881(4)
Cu(1)–O(2)	1,915(4)	Cu(2)–O(3)	1,916(4)
Cu(1)–N(2)	1,929(5)	Cu(2)–N(4)	2,001(5)
Cu(1)–N(3)	1,999(5)	Cu(2)–N(5)	1,921(5)
Cu(1)–O(7)	2,540(7)	Cu(2)–O(4)	2,361(6)
Cu(1)–O(10)*	2,57(1)	Cu(1)···Cu(2)	3,493(2)
O(1)–Cu(1)–O(2)	98,5(2)	O(1)–Cu(2)–O(3)	97,4(2)
O(1)–Cu(1)–N(2)	165,1(2)	O(1)–Cu(2)–N(5)	166,7(2)
O(2)–Cu(1)–N(2)	94,8(2)	O(3)–Cu(2)–N(5)	94,1(2)
O(1)–Cu(1)–N(3)	84,3(2)	O(1)–Cu(2)–N(4)	85,9(2)
O(2)–Cu(1)–N(3)	171,6(2)	O(3)–Cu(2)–N(4)	173,3(2)
N(2)–Cu(1)–N(3)	83,5(2)	N(5)–Cu(2)–N(4)	82,0(2)
O(1)–Cu(1)–O(7)	85,5(2)	O(1)–Cu(2)–O(4)	88,9(2)
O(2)–Cu(1)–O(7)	89,7(3)	O(3)–Cu(2)–O(4)	99,8(2)
N(2)–Cu(1)–O(7)	87,9(3)	N(5)–Cu(2)–O(4)	95,9(2)
N(3)–Cu(1)–O(7)	98,4(3)	N(4)–Cu(2)–O(4)	86,0(3)
		Cu(2)–O(1)–Cu(2)	134,9(2)

* Szimmetria transzformáció: $x+1, y, z$

Ilyen szerkezeti egységet ezidáig csak néhány kétmagvú réz(II)komplexben találtak⁴⁷. Valójában a metanolmolekula és a perklorátionok oxigénatomjai a Jahn-Teller-hatás következtében gyengébben koordinálnak a fémionhoz. A rács-víz-molekula speciális pozíciót foglal el ($x = 0,5$, $y = 0,5$, $z = 0,5$). A vízmolekula oxigénje és az összes egyéb nem-hidrogénatom távolsága $\geq 3,88 \text{ \AA}$.

F2. táblázat: *Kristallográfias adatok, az adatgyűjtés és a szerkezetanalízis részletei a $[Cu_2(bimidoH_2)(DPP)(ClO_4)(CH_3OH)]ClO_4 \cdot 0,5H_2O$ (1) és a $[Zn(bimido)Cl]NO_3$ (2) komplexekre vonatkozóan*

Komplex →	1	2
kémiai képlet	$C_{26}H_{36}Cl_2Cu_2N_6O_{14,5}P$	$C_{13}H_{22}ClN_7O_4Zn$
M_r	893,56	441,19
kristálméret (mm)	$0,16 \times 0,20 \times 0,32$	$0,24 \times 0,32 \times 0,48$
kristályrendszer	triklin	monoklin
térceport	$P1bar$	$P2_1/c$
a (Å)	7,290(1)	11,311(2)
b (Å)	13,430(3)	13,299(3)
c (Å)	18,090(4)	12,816(3)
α , (°)	92,37(3)	90,00
β , (°)	97,02(3)	103,43(3)
γ , (°)	99,38(3)	90,00
V (Å ³)	1730,9(6)	1865,26
sűrűség (számított) (gcm ⁻³)	1,714	1,571
Z	2	4
T (K)	213(2)	213(2)
Θ tartomány az adatgyűjtésre	4,71 - 26,12°	4,05 - 26,05°
index tartományok	$-8 \leq h \leq 8, -16 \leq k \leq 16, -22 \leq l \leq 22$	$-13 \leq h \leq 12, -16 \leq k \leq 16, -15 \leq l \leq 15$
μ (mm ⁻¹)	1,506	1,490
F(000)	914	885
Reflexiók gyűjtött/egyedi	13672 / 6281 [R(int)=0,1060]	14864 / 3657 [R(int)=0,00752]
Paraméterek száma	466	235
Végső R indexek (összes adat) ^a	$R_1 = 0,1033, wR2 = 0,1956$	$R_1 = 0,0305, wR2 = 0,0750$
Végső R indexek [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0,0657, wR2 = 0,1656$	$R_1 = 0,0314, wR2 = 0,0836$
Súlyozási séma ^b	$1/[\sigma^2(F_o^2) + (0,0897P)^2 + 2,83P]$	$1/[\sigma^2(F_o^2) + (0,0328P)^2 + 1,34P]$
Az illesztés jósága F ² -re	1,050	1,046
Fourier-csúcs eltérés, min/max	-0,67/1,56	-0,32/0,33

^a $R_1 = \sum ||F_o| - F_c| / \sum |F_o|$, $wR_2 = [\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum w(F_o^2)^2]^{1/2}$; ^b $P = (\max(F_o^2, 0) + 2F_c^2) / 3$

A réz(II)ionok tetragonális síkjában mért kötéstávolságok (Cu-N_{im} = 1,927 és 1,920, Cu-N_{am} = 1,997 és 2,002, Cu-O_{alk} = 1,901 és 1,880, Cu-O_p = 1,915 és 1,917 Å) hasonlóak a két fémcentrum esetében. A Cu-N távolságok azonban rövidebbek a szerkezetileg hasonló, benzimidazollal háromszorosan vagy négyszeresen szubsztituált 1,3-diamino-2-propanol

vegyületek megfelelő komplexeihez^{47,10,174} viszonyítva ($\Delta = 0,05 - 0,15 \text{ \AA}$). Ez valószínűleg a tetragonális sík kisebb torzulásának köszönhető a bimido komplexében. Másrészt a Cu–O távolságok tipikusnak mondhatók az említett kétmagvú komplexekkel összevetve.

A Cu(1)–Cu(2) távolság 3,493 Å, míg a Cu(1)–O–Cu(2) kötések által bezárt szög 134,9°. Ezek a viszonylag nagy értékek a ligandumváz által alkotott csatolt ötös kelátgyűrűk következményei és megfelelnek egyéb, *N,N'*-szubsztituált 1,3-diamino-2-propanol ligandumok hasonló komplexeire kapott távolságoknak és szögeknek^{47,10,174,175,176}. A fém–fém szeparáció és a DPP μ -1,3-hidas kötődése a fémionokhoz hasonló, mint számos metallo-foszfóészteráz enzimben^{28,82,101}. A foszfát-diészterekre ilyen módon kifejtett kettős Lewis-sav aktiválás minden bizonnyal kulcsfontosságú tényező az 5.2.2. fejezetben tárgyalt hidrolitikus folyamatokban.

A számítások csak enyhe torzulást mutatnak a Cu(2) bazális síkjában, ugyanakkor a donatoratomok jelentősen kitérnek a Cu(1) ideális ekvatoriális síkjából (átlagos kitérés = 0,133 Å). A fémcentrumok környezetének eltérő geometriája következtében csak Cu(2) emelkedik ki számottevően a bazális síkból (0,1 Å O(4) irányában). A réz(II)centrumok illesztett ekvatoriális síkjai által bezárt szög 9,4(1)° és a Cu₂O₃P egységre illesztett sík és Cu(2) bazális síkjai közti szög 7,8(1)°. Ezek az adatok a komplex kation alapvetően síkszerű (planáris) szerkezetét tükrözik.

Végezetül, számos hidrogénhid az egyes atomok között, így pl. N(6)–H és O(11), N(3)–H és O(9) ($x+1, y, z$), O(4)–H és O(8) ($x+1, y, z$) stabilizálja a kristály szerkezetét.

2. A $[Zn(bimido)Cl]NO_3$ komplex előállítása, szerkezete és a röntgenszerkezet-elemzés krisztallográfiás adatai

Előállítás: 66 mg (0,15 mmol) bimido·4HCl ligandumot 5 ml vízmentes metanolban oldottunk, majd 4 ekvivalens mennyiségű metanolban oldott NaOH-dal közömbösítettük. Ezt követően 44,6 mg (0,15 mmol) Zn(NO₃)₂·6H₂O sót adtunk hozzá. Az oldatot 50 °C-ra melegítettük, majd óvatosan 2-3 ml-re bepároltuk. Lassú szobahőmérsékletre történő hűtést követően 2-3 nap elteltével szintelen kristályokat nyertünk. A C₁₃H₂₂CN₇O₄Zn-re számítható: C 35,38, H 4,99, N 22,22. Mért: C 35,08, H 4,91, N 22,42 %.

A kristályszerkezet leírása: A komplex kristályszerkezete a 47. ábrán látható, a jellemző kötéstávolságok és kötésszögek az F3., a krisztallográfiás adatok az F2. táblázatban vannak összefoglalva. A cink(II)ion a komplexben enyhén torzult négyzetes piramisos környezetben helyezkedik el, a bimido négy nitrogéndonorja foglalja el a bazális pozíciókat, míg egy kloridion axiálisan koordinálódik. A cink(II)ion 0,527(1) Å távolságra emelkedik ki N(2), N(3), N(4) és N(5) pozícióira illeszthető síkból. Az alkoholos O(1) oxigén nem koordinálódik a fémionhoz. A kristály szerkezetét számos, az O(1), N(1) és N(3) atomokon elhelyezkedő hidrogének és a nitrát-oxigének között kialakuló hidrogénhid stabilizálja. Emellett két komplex egységet az N(6) és O(1) atomok között kialakuló közepesen erős hidrogénhid köt össze (N(6)–O(1) kötéstávolság = 2,802 Å).

Az ötös koordinációs számú cink(II) kevésbé elterjedt biológiai rendszerekben, ám lényeges lehet katalitikus reakciók intermediereiben¹⁷⁷. Bár ciklikus tetraaza ligandumokkal számos négyzetes piramisos cink(II)komplex ismert¹⁷⁸, imidazol származékokkal csak néhány példa található az irodalomban¹⁷⁹.

Az átlagos Zn–N_{im} távolság (2,05 Å) jelentősen kisebb, mint a szekunder aminos-nitrogénekre vonatkozó megfelelő távolság adat (2,15 Å). Az említett Zn–N_{im} távolság ugyancsak

kisebb, mint az egyetlen eddig ismert olyan négyzetes piramisos cink(II)komplexben, melyben bazális pozíciókban imidazolnitrogének koordinálnak (2,08 Å)¹⁷⁹.

Az ideális négyzetes piramisos szerkezettől való legjelentősebb torzulás a komplexben az N(2)–Zn–N(5) szögre vonatkozik, melynek értéke 101,2° ($\Delta = 15,2^\circ$). Ez a két csatolt ötös kelátgyűrű következménye, melyekben a N–Zn–N szögek kisebbek, mint 80°.

F3. táblázat: Jellemző kötősszögek (°) illetve kötéstávolságok (Å) (zárójelben az utolsó tizedes jegyekre vonatkozó hibákkal) a $[Zn(bimido)Cl]NO_3$ komplexben

Zn–N(2)	2,072(2)	Zn–N(4)	2,167(2)
Zn–N(3)	2,132(2)	Zn–N(5)	2,031(2)
Zn–Cl(1)	2,261(1)		
N(2)–Zn–N(3)	79,35(8)	N(4)–Zn–N(5)	78,34(8)
N(2)–Zn–N(4)	151,74(8)	N(2)–Zn–Cl(1)	108,92(7)
N(2)–Zn–N(5)	101,17(8)	N(3)–Zn–Cl(1)	102,60(7)
N(3)–Zn–N(4)	86,53(8)	N(4)–Zn–Cl(1)	97,95(7)
N(3)–Zn–N(5)	148,02(8)	N(5)–Zn–Cl(1)	107,25(7)

3. A $Cu(bpdpo)(ClO_4)_2$ komplex előállítása, szerkezete és a röntgenszerkezet-elemzés krisztallográfiás adatai

Előállítás: 62,1 mg (0,15 mmol) bpdpo·4HCl ligandumot 5 ml vízmentes metanolban oldottunk, majd 4 ekvivalens mennyiségű metanolban NaOH-dal közömbösítettük. Ezt követően 5 ml metanolban oldott 55,6 mg (0,15 mmol) $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ sót adtunk hozzá. A mélykék színű metanolos oldatot óvatosan ~ 4 ml-re bepároltuk. Lassú szobahőmérsékletre történő hűtést követően mélykék színű kristályokat nyertünk. A $C_{15}H_{20}Cl_2CuN_4O_9$ -re ($M = 534,79$) számítható: C 33,66, H 3,74, N 10,47. Mért: C 33,41, H 3,76, N 10,45 %.

F4. táblázat: Jellemző kötősszögek (°) illetve kötéstávolságok (Å) (zárójelben az utolsó tizedes jegyekre vonatkozó hibákkal) a $Cu(bpdpo)(ClO_4)_2$ kristályban az a és b molekulában

a		b	
Cu1–N1	2,010(5)	Cu1–N1	1,998(5)
Cu1–N2	2,019(5)	Cu1–N2	2,028(6)
Cu1–N3	2,034(5)	Cu1–N3	2,021(6)
Cu1–N4	1,995(5)	Cu1–N4	2,016(5)
Cu1–O2	2,498(6)	Cu1–O2	2,527(6)
Cu1–O7	2,891(7)	Cu1–O7	2,819(6)
N4–Cu1–N1	104,3(2)	N4–Cu1–N1	103,7(2)
N4–Cu1–N2	160,2(2)	N4–Cu1–N2	162,6(2)
N1–Cu1–N2	83,5(2)	N1–Cu1–N2	84,0(2)
N4–Cu1–N3	84,9(2)	N4–Cu1–N3	84,8(2)
N1–Cu1–N3	164,2(3)	N1–Cu1–N3	165,8(3)
N2–Cu1–N3	92,0(2)	N2–Cu1–N3	91,1(2)
O2–Cu1–O7	161,6(2)	O2–Cu1–O7	166,5(2)

A kristályszerkezet leírása: Az aszimmetrikus kristályegység két krisztallográfiásan független, de csaknem azonos komplex molekulából épül fel (a és b molekula). A dolgozat 5.1.3. fejezetének 51. ábrája az a molekula szerkezetét mutatja be, a jellemző kötéstávolságokat és kötősszögeket az

F4., a krisztallográfiás adatokat pedig az F5. táblázatban foglaltam össze. Mindkét réz(II) koordinációs szférája $\{N_4O_2\}$ szerkezetű, a bpdpo négy nitrogéndonorja és két perklorátóxi- gén kapcsolódik a fémionokhoz. A Cu–N távolságok 1,995 és 2,034 Å között vannak (átlag: 2,015 Å). A négy ekvatoriális helyzetű nitrogén erőteljesen kitér a pozíciójukra illeszthető síkból (az átlagos kitérés: 0,292 Å (a) és 0,253 Å (b)), ami tetraéderes torzuláshoz vezet. (A *transz* N–Cu–N kötősszögek a következők: N1–Cu1–N3 = 164,2° és 165,8° (a és b) illetve N2–Cu–N4 = 160,2° és 162,6° (a és b)).

F5. táblázat: Krisztallográfiás adatok, az adatgyűjtés és a szerkezetanalízis részletei a $Cu(bpdpo)(ClO_4)_2$ (1) és a $[Cu_2(bpdpoH_2)(DPP)(CH_3OH)(ClO_4)]ClO_4$ (2) komplexekre vonatkozóan

Komplex →	1	2
kémiai képlet	$C_{15}H_{20}Cl_2CuN_4O_9$	$C_{28}H_{33}Cl_2Cu_2N_4O_{14}P$
M_r	534,79	878,53
kristálméret (mm)	0,24 × 0,32 × 0,48	0,16 × 0,20 × 0,32
kristályrendszer	monoklin	monoklin
térceport	$P2_1/c$	$P2_1/c$
a (Å)	11,714(2)	7,286(2)
b (Å)	12,817(3)	32,789(7)
c (Å)	27,364(6)	15,003(3)
α , (°)	90	90
β , (°)	90,77(3)	91,70(3)
γ , (°)	90	90
V (Å ³)	4108,0(1)	3583,7(1)
sűrűség (számított) (gcm ⁻³)	1,729	1,628
Z	8	4
T (K)	153(2)	153(2)
Θ tartomány az adatgyűjtésre	2,18 - 27,01°	4,27 - 25,60°
μ (mm ⁻¹)	1,381	1,451
F(000)	2184	1792
Reflexiók gyűjtött/egyedi	9079 / 8674 [R(int)=0,0383]	27024 / 6583 [R(int)=0,0687]
Paraméterek száma	559	488
Végső R indexek (összes adat) ^a	$R_1 = 0,1496, wR_2 = 0,1809$	$R_1 = 0,0800, wR_2 = 0,1489$
Végső R indexek [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0,0666, wR_2 = 0,1528$	$R_1 = 0,0599, wR_2 = 0,1362$
Az illesztés jósága F ² -re	0,877	1,023
Fourier-csúcs eltérés, min/max	-0,68/1,35	-0,92/1,25

^a $R_1 = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$, $wR_2 = [\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum w(F_o^2)^2]^{1/2}$

A két axiálisan kötött perklorátóxi- génre vonatkozó Cu–O távolságok meglehetősen eltérőek (2,498 és 2,891 Å (a) illetve 2,527 és 2,819 Å (b)), ami síknégyszetes geometria irányába mutató torzulást eredményez. A bpdpo hidroxilcsoportja nem koordinálódik a fémionhoz, azonban a szekunder aminocsoportokkal együtt hidrogénhidas kölcsönhatásban van a perklorátionokkal.

4. A $[Cu_2(bpdpoH_2)(DPP)(CH_3OH)(ClO_4)]ClO_4$ komplex előállítása, szerkezete és a röntgenszerkezet-elemzés kristallográfiás adatai

Előállítás: 82,8 mg (0,2 mmol) $bpdpo \cdot 4HCl$ ligandumot 6 ml 0,2 M-os metanolos NaOH oldatban oldottunk (6 ekvivalens), majd az oldathoz 50,0 mg (0,2 mmol) difenil-foszforsavat és 5 ml metanolban oldott 148,4 mg (0,4 mmol) $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ sórt adtunk. A metanolos oldatot óvatosan ~ 4 ml-re bepárooltuk. Lassú szobahőmérsékletre történő hűtést követően mélykék színű kristályokat nyertünk. A $C_{28}H_{33}Cl_2Cu_2N_4O_{14}$ -re ($M = 878,53$) számítható: C 38,24, H 3,76, N 6,37. Mért: C 38,26, H 3,78, N 6,40 %.

A kristályszerkezet leírása: A komplex koordinációs geometriája alapvetően megegyezik a fentebb bemutatott kétmagvú bimido komplexével, azonban a részletekben eltérések is akadnak. A dolgozat 5.1.3. fejezetének 53. ábrája a komplex szerkezetét mutatja be, a jellemző kötéstávolságok és kötésszögek az F6., a kristallográfiás adatok pedig az F5. táblázatban vannak összefoglalva. A ligandum a két réz(II)iont egy félkörív mentén három-három foggal, csatolt kelátgyűrűkkel koordinálja. A két fémiont a belső μ -alkoxo-híd és a difenil-foszfátion μ -1,3 típusú hídja köti össze. A $bpdpo$ ligandum szimmetrikus szerkezete ellenére a két fémion koordinációs geometriája eltérő. Mindkét fémionhoz egy-egy piridilnitrogén, egy-egy szekunder aminocsoport, a deprotonálódott alkoholos hidroxilcsoport oxigénje, valamint a difenil-foszfát egy-egy oxigénje koordinálódik. A Cu1 koordinációs szférája két axiális perkloráttoxigén koordinációjával telítődik, mely $\{N_2O_4\}$ donorcsoportok által kialakított torzult oktaéderes geometriát eredményez. A Cu2 körüli geometria torzult négyzetes piramis, az apikális pozícióban egy nemdeprotonálódott metanol oxigénnel ($\{N_2O_3\}$ környezet). A réz(II)ionok tetragonális síkjában számolt átlagos kötéstávolságok: Cu–N = 1,985 Å illetve Cu–O = 1,927 Å. A két axiális perkloráttoxigén 2,468 illetve 2,594 Å távolságra vannak Cu1-től, míg a Cu2 és a metanol oxigén közti távolság: 2,332 Å. A Cu1 ekvatoriális síkjában levő donorkok erőteljesen kitérnek az ideális síkból (átlagos kitérés: 0,108 Å), ugyanakkor a Cu2 bazális síkja csaknem tökéletes, a fémion 0,118 Å-mel e sík felett helyezkedik el. A két fémcentrum illesztett ekvatoriális síkja által bezárt szög 16,5° (a két piridingyűrű síkja 28°-os szöget zár be), ami a ligandumváz görbült szerkezetét eredményezi.

A Cu1–Cu2 távolság 3,499 Å, míg a Cu1–O–Cu2 kötések által bezárt szög 132,9°. A DPP híd típusú koordinációja jelentősen torzult tetraéderes geometriát eredményez a foszforatom körül. Az O2–P1–O3 szög 119,6° míg az O4–P1–O5 szög 98,2°. Az átlagos P1–O távolságok a koordinálódó foszfáttoxigénekre (1,476 Å) jelentősen kisebbek, mint a P1–O4(O5) átlagos távolság (1,576 Å). Ezek az adatok összhangban vannak korábbi μ -1,3 foszfáthidas kétmagvú komplexekre mért adatokkal^{118,180}. Általában a koordinált fémion foszfinilsík alatti vagy fölötti elhelyezkedése kedvezményezettebb, mint a síkbeli elhelyezkedés¹⁸¹. A $bpdpo$ komplexében Cu2 a P1–O2–O3 síkban, míg Cu1 azon kívül található. A síktól való távolság Cu2 esetén mindössze 0,02 Å, míg Cu1-nél 0,54 Å. Összehasonlításképpen a bimido komplexében Cu1 0,41, Cu2 pedig 0,75 Å-mel emelkedik ki a megfelelő foszfinilsíkból.

Irodalmi adatok alapján a foszfátcsoport akkor képes két fémcentrumot hídként összekötni, ha azok távolsága 3-6 Å között van. A natív kétmagvú metallo-foszfoészterázokban a fém–fém távolság 3–4 Å^{28,82}, és a μ -1,3-hidas szubsztrátkötődés is gyakori. A $bpdpo$ kétmagvú réz(II)komplexe mindkét említett szerkezeti követelményt kielégíti.

F6. táblázat: Jellemző kötőszögek ($^{\circ}$) illetve kötéstávolságok (\AA) (zárójelben az utolsó tizedes jegyekre vonatkozó hibákkal) a $[\text{Cu}_2(\text{bpdpoH}_2)(\text{DPP})(\text{CH}_3\text{OH})(\text{ClO}_4)]\text{ClO}_4$ komplexben

Cu1–O1	1,914(3)	Cu2–O1	1,903(3)
Cu1–O2	1,953(4)	Cu2–O3	1,938(3)
Cu1–N1	1,987(4)	Cu2–N4	1,978(5)
Cu1–N2	1,989(4)	Cu2–N3	1,987(4)
Cu1–O8	2,468(4)	Cu2–O10	2,332(4)
Cu1–O7 #1	2,594(4)	Cu1...Cu2	3,499(1)
O1–Cu1–O2	98,3(2)	O1–Cu2–O3	99,0(2)
O1–Cu1–N1	164,7(2)	O1–Cu2–N4	166,7(2)
O2–Cu1–N1	93,8(2)	O3–Cu2–N4	91,8(2)
O1–Cu1–N2	85,8(2)	O1–Cu2–N3	85,8(2)
O2–Cu1–N2	175,1(2)	O3–Cu2–N3	171,3(2)
N1–Cu1–N2	82,7(2)	N4–Cu2–N3	82,5(2)
O8–Cu1–O7 #1	170,2(2)	Cu2–O1–Cu1	132,9(2)

* Ekvivalens atomok generálásához szimmetria transzformáció alkalmazva: $\#1 \ x + 1, y, z$

Summary

Metal complexes of low molecular weight model ligands are generally accepted and widely used to mimic the metal-binding ability, structural and functional features of the active sites of metalloproteins. The use of model compounds has remarkable advantages beside the obvious disadvantages. The study of low molecular weight complexes is simpler and cheaper than that of the native macromolecules. By the investigation of structural models one can obtain information about the effects of any changes around the metal ion (e.g. change of donor groups or geometry) on the redox-, magnetic- or spectral properties of the central metal ions. Detailed studies of functional models may further to understand better the function and mechanism of the active sites of metalloproteins or enzymes.

The Ph.D. work includes studies of the copper(II), zinc(II) and dimethyltin(IV) complexes of low molecular weight ligands. The compounds studied are dipeptides or peptide derivatives (glycyl-*L*-aspartic acid, *L*-aspartyl-glycin, salycil-glycin), a dimethyl substituted derivative of 1,3,5-trideoxy-1,3,5-triamino-*cis*-inositol and – as a continuation of the work of our research group in the last few years – imidazole or pyridine containing ligands. Most of the systems have been investigated by equilibrium and solution structural methods. The X-ray crystallographic data of four complexes provided strong support for the proposed solution structures. Kinetic experiments have been performed in many systems to determine the hydrolytic activity of the formed complexes on the cleavage of activated and unactivated phosphate diesters. The pseudo first order rate constants have been measured as a function of pH, metal to ligand ratio and total concentrations that provided the possibility to identify the kinetically active species. The experimental data allowed to reach some mechanistic conclusions.

The objectives of the work were the following:

- Detailed description of the solution equilibrium of the systems together with structure of the species formed.
- Synthesis of metal complexes able to induce the cleavage of different phosphate esters.
- Kinetic analysis of the model systems on the basis of hydrolytic studies with different substrates with the addition of formal-kinetic description of the hydrolytic processes.

The methods applied for the investigations:

pH-metric and combined pH-metric/spectrophotometric methods have been used for the investigation of the solution equilibria and for the description of composition of the species formed. The computer program PSEQUAD have been used for the evaluation of the obtained data.

Several solution structural methods (e.g. UV/VIS-, NMR-, EPR- and Mössbauer-spectroscopy) have been utilised to characterise the metal complexes in solution. EPR-spectroscopy have been used to obtain information on the equatorial positions of the copper(II) species (e.g. number of nitrogen donors, distortion of the structure *etc.*) and to verify the formation of dinuclear species with anti-ferromagnetic interaction between the copper(II) centres. ¹H and ¹³C NMR measurement have been performed for the characterisation of zinc(II) and dimethyltin(IV) complexes. The method was proved to be essentially useful in case of slow ligand exchanging species. In case of dimethyltin(IV) couplings observed between different ¹H or

^{13}C nuclei and $^{117,119}\text{Sn}$ let us determine the donor groups co-ordinated to the metal ion and the geometry of the species formed.

X-ray crystallography was utilised to characterise the solid state structure of the complexes obtained in a few systems.

For the kinetic experiments, spectrophotometry and HPLC techniques have been utilised to follow the hydrolysis of activated and unactivated esters, respectively. Spectrophotometric experiments were based on the expressed band of *p*-nitrophenolate ion ($\sim 400\text{ nm}$), the hydrolysis product of the activated esters investigated. During the HPLC measurements the original substrates and the different products have been separated on reversed phase columns and their ratio was monitored with the detection of the nucleobases at $\sim 260\text{ nm}$.

Results of the work:

The ligands containing only imidazole rings (TRIM, TIM) formed differently protonated mono- and bis-complexes with copper(II) and zinc(II) with high stability. In the TIM– copper(II) system only MLH_x species have been detected. The deprotonation processes following the formation of the parent complexes resulted in the formation of precipitation, which prevented investigations in the higher pH-range. In the mono- and bis-complex of zinc(II) the ligands are co-ordinated in a tridentate manner, however, their conformations in ZnL and ZnL_2 are different. This results in a tetrahedral geometry in the mono-complex while the structure of the bis-complex is octahedral. In the bis-complex of copper(II) bidentate co-ordination of the second ligand is probable which results in a distortion of the tetragonal symmetry. The interaction of the zinc(II) complexes with *L*-cysteine have also been studied. pH-metric and NMR results showed the existence of mixed-ligand complexes in a significant amount. In the ternary complexes, the cysteine co-ordinates *via* its amino and thiolate groups to the zinc(II) ion, beside the co-ordination of the imidazole rings of TRIM or TIM.

Pyrdiam and imhm also form stable mono- and bis-complexes with the two transition metal ions. In the copper(II) containing solutions – in contrast with the previously described systems – no precipitation has been observed parallel with the deprotonation of CuL species. This process results in a hydroxo-mixed ligand complex in case of pyrdiam, while EPR studies proved the formation of μ -dihydroxo-bridged dinuclear species in the imhm–copper(II) system. Similarly to the bis-complexes of TRIM, the bis-copper(II) and zinc(II) complexes of pyrdiam are structurally different (5 and 6 nitrogen donors are co-ordinated to copper(II) and zinc(II), respectively). In contrast with pyrdiam, the ligand backbone of imhm provides the possibility of formation of {5,6}-membered fused chelate rings, which allow copper(II) to bound to both ligands in a tridentate manner in elongated octahedral geometry.

Bimido can form dinuclear complexes with the participation of its endogenous 2-hydroxypropyl group. In the equimolar systems of bimido and copper(II) or zinc(II) highly stable ML species have been detected in a wide pH-range. The deprotonation of ML leads to MLH_1 with a pK of $\sim 9,5$ (Zn(II)) and $\sim 11,1$ (Cu(II)). In the zinc(II) species, beside the four nitrogen donors, co-ordination of a terminal hydroxide ion can be proposed. On the other hand, in the copper(II) species the deprotonation process in question can be attributed to the proton loss of the pyrrolic nitrogen of one of the imidazole rings. In the presence of metal ion excess, solubility problems occurred in both systems. The problem was overcome with the change of water solvent to ethanol-water mixture (65 w/w%) in case of zinc(II). In the copper(II) containing

system, stability constants for the dinuclear species have not been obtained since precipitate formation could only be avoided in the absence of any background electrolyte. However, EPR and UV/VIS studies undoubtedly showed the existence of dinuclear species in neutral pH-range. This was further supported by solid structure of the complex obtained from methanol solvent in the presence of two fold metal ion excess and one equivalent of diphenyl-phosphate. The X-ray analysis showed two copper(II) centres connected by the deprotonated 2-hydroxyl group and by the μ -1,3-bridged diphenyl-phosphate unit. Interestingly, the geometry of the two metal ions are different. One copper(II) is surrounded by six donors in an octahedral environment, while the other copper(II) has five donors, and the co-ordination geometry is a slightly distorted square-pyramid. The pH-metric and ^1H NMR measurements performed in the zinc(II) containing system showed the presence of a dinuclear complex formed around pH 7.4. On the basis of the ^1H NMR spectra the existence of two protonation isomers of $\text{Zn}_2\text{LH}_{-2}$ can be assumed. Their ratio is independent on pH and concentration. The slow ligand exchanging isomer with the alcoholate bridge between the zinc(II) ions is correctly described as $\text{Zn}_2\text{LH}_{-1}(\text{OH})$, while the fast ligand exchanging species can be referred as $\text{Zn}_2\text{L}(\text{OH})_2$. In the latter one, both metal ions are co-ordinated by two nitrogen donors of the ligand and one hydroxide ion.

Investigation of the bpdpo-copper(II) equimolar system showed the formation of CuL complex with extremely high stability. The solution structure of the species have been characterised by EPR and UV/VIS measurements. The equatorial co-ordination of all the four nitrogens of bpdpo is also supported by the X-ray analysis of the crystal obtained from the equimolar methanolic solution. In the presence of metal ion excess formation of CuL is followed by two strongly overlapping deprotonation processes leading to $\text{Cu}_2\text{LH}_{-2}$. The pH of the 50 % formation of the mentioned bis-complex is ~ 6.25 , which is more than one log unit smaller, than the pK for the formation of the bimido-zinc(II) species with identical brutto composition. The structure of the complex is analogue to the alcoholate-bridged dinuclear zinc(II) complex-isomer of bimido, according to the EPR, spectrophotometric and X-ray crystallographic results.

Formation of species with very similar composition have been detected by the equilibrium studies of the Gly-Asp-, Asp-Gly- and Sal-Gly-dimethyltin(IV) systems. (The absence of the second carboxylate group in the ligand Sal-Gly results in differences only in the acidic pH-range.) Carboxylate co-ordinated complexes with fast ligand exchange (relative to the NMR time scale) have been detected between pH 2–5. Gly-Asp is able to form more stable chelate ring with the participation of its two carboxylate groups as compared to Asp-Gly. As a result of that, pK -values for the deprotonation processes leading to ML species are notably different. The latter process can be attributed to the deprotonation of a metal bound water molecule in case of the two dipeptides. In neutral pH-range, all the three ligands form slow ligand exchanging MLH_{-1} species. The process can be followed by the appearance of new sets of signals on the ^1H and ^{13}C NMR spectra. On the basis of the NMR results, the structure of MLH_{-1} is trigonal bipyramidal with the co-ordination of the terminal carboxylate, deprotonated amide nitrogen and the amino (or phenolate) group of the ligands. The formation of MLH_{-1} can be described with a special process in which the terminal carboxylate acts as the primary anchor inducing the co-operative deprotonation of the amide group and the terminal amino or phenol group. The binding strength of the ligand is governed by the mostly electrostatic Sn^+-OOC and the covalent $\text{Sn}-\text{N}^-$ bond, while the nature of the other terminal chelating donor is less determining. Carboxylate side chain

donors of the ligands are not able to influence either the stability or the structure of the MLH_1 species.

The hydrolytic activity of the complexes characterised by equilibrium and solution structural methods have also been studied. Activated and unactivated phosphoesters have been used for the investigations as model substrates.

In the TRIM and TIM containing systems the early precipitate formation (preceded by the formation of the parent complexes) prevented to perform kinetic studies. The $CuL(OH)$ species formed in the pyrdiam–copper(II) system showed a weak activity for the transesterification of hpnp. Due to the saturated co-ordination environment of the copper(II) ions, the $Cu_2L_2(OH)_2$ species formed in the imhm–copper(II) system is not able to induce the hydrolysis of phosphoesters.

The Cu_2LH_2 species formed in the bimido–copper(II) system proved to be efficient either for the transesterification of hpnp or for the hydrolysis of cUMP. Remarkably higher activity have been observed for the dinuclear complex of zinc(II). The pH-dependent kinetic studies showed the increase of the pseudo first order rate constants parallel with the formation of the $M_2LH_1(OH)$ species. The constants (K_{ass} , K_M) determined from saturation kinetic experiments do not refer to a special interaction between the complex and substrate. On the other hand, the catalytic rate constant is one of the highest values obtained for a dizinc(II) complex so far. For the complex catalysed hydrolysis of cUMP 10-20000 fold rate acceleration was observed as compared to the autohydrolysis of the substrate. The characteristic plateau (wide maximum) observed on k_{obs} vs. pH profile above pH ~ 7.5 suggests that the general base catalysis, activating the nucleophilic OH group, is provided by the metal-bound hydroxide ion. In addition, μ -1,3-bridging co-ordination of the phosphate unit may provide double Lewis-acid activation for the substrate. The rate enhancement of the hydrolysis provided by the active species is 10–15 times larger in the case of cUMP than for UpU. The difference is not large enough to make us assume the direct nucleophilic action of the metal-bound hydroxide ion on the phosphorous atom. As a consequence, the mechanism for the cUMP cleavage is supposed to be similar to the mechanism discussed above for hpnp. The metal-bound hydroxide ion provides a general base catalysis inducing the deprotonation of the attacking water molecule.

The bpdpo–copper(II) system was found to be very efficient in the hydrolysis of hpnp, cUMP and UpU substrates. The experiments performed with the variation of pH and metal to ligand ratio verified that the species with $Cu_2LH_1(OH)$ composition is responsible for the observed activity. The transesterification of hpnp was found to be catalytic since four turnovers – following first order kinetics – have been observed without notable decrease of activity using four fold excess of hpnp. The active species in a concentration of 2 mM induced 5 and 4 orders of magnitude rate acceleration for the hydrolysis of cUMP and UpU, respectively. Similarly to bimido, the co-operative behaviour of the two copper(II) ions providing double Lewis-acid activation for the substrate plays an important role in the mechanism. The mechanism of the cleavage of hpnp and UpU is supposed to be identical, the metal-bound hydroxide attacks the 2-hydroxypropyl or 2'-OH groups as a general base. In the case of cUMP, direct nucleophile catalysis can not be excluded, though the observed rate acceleration difference for cUMP and UpU is not as large to provide evidence for mechanistic differences for the two substrates.

The Cu_2LH_3 complex formed in the tdcu-copper(II) system efficiently hydrolysed the cyclic nucleotides applied. During the process, important base selectivity have been observed on the favour of the adenosine derivative. On the other hand, the active species showed a very expressed regioselectivity for the hydrolysis of cUMP, cleaving selectively the 2'-O-P bond, resulting in the 90 % formation of the 3'UMP product. The complex is not able to enhance the cleavage of dinucleotides. This latter observation, together with the high k_2 value determined for the active species, makes us assume that the metal-bound hydroxide rather acts as a direct nucleophile than a general base in the mechanism. The tdcu-copper(II)-zinc(II) ternary system was proved to be even more efficient (by almost an order of magnitude) than the copper(II) containing binary system. Beside that, species formed in the presence of both metal ions were able to enhance the cleavage of five different dinucleotides as well. The rate acceleration observed for 3'5'-ApA and 2'5'-ApA was remarkably different. The half life time of the 3'5'-isomer was reduced from 3.4 years to 13 hours. As in the case of the base selectivity observed for the copper(II) species, interaction between the complex and the base moiety of the substrates may play a role in the rate acceleration differences found for the two isomers. The ternary system provides a good example for the advantageous co-operation of metal ions with different properties on the hydrolysis of biological substrates.

A disszertáció anyagához kapcsolódó és egyéb közlemények

A disszertáció anyagához kapcsolódó közlemények:

- 1) Attila Jancsó, Bernard Henry, Patrice Rubini, György Vankó, Tamás Gajda, "Dimethyltin(IV)²⁺ cation induced amide deprotonation of aspartic acid containing dipeptides", *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2000, 1941-1947.
- 2) Tamás Gajda, Roland Krämer, Attila Jancsó, "Structure, equilibrium and ribonuclease activity of copper(II)- and zinc(II) complexes formed with a dinucleating bis-imidazole ligand", *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2000, 1635-1644.
- 3) Attila Jancsó, Tamás Gajda, Etienne Mulliez, László Korecz, "Equilibrium and solution structural study of the interaction of tri- and tetradentate polyimidazole ligands with transition metal ions", *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2000, 2679-2684.
- 4) Attila Jancsó, Tamás Gajda, Attila Szorcsik, Tamás Kiss, Bernard Henry, György Vankó, Patrice Rubini "Potentiometric and spectroscopic studies on the organotin(IV) complexes of 2-hydroxyhippuric acid", *J. Inorg. Biochem.*, 2001, 83, 187-192.
- 5) Tamás Gajda, Attila Jancsó, Holger Sirges, Satu Mikkola, Harri Lönnberg, "Copper(II)-complexes of a dinucleating bis-pyridil ligand: structure and phospho-diesterase activity", *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, közlésre benyújtva (2001).
- 6) Attila Jancsó, Ibolya Török, László Korecz, Antal Rockenbauer, Tamás Gajda, "Metal ion co-ordination of a tripodal imidazole-derivative and its tridentate constituent: equilibrium and structural studies", *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, közlésre benyújtva (2001).

Egyéb közlemények:

- 7a) Béla Gyurcsik, Tamás Gajda, Attila Jancsó, René Lammers, László Nagy, "Equilibrium and solution structural study of the proton, copper(II), nickel(II) and zinc(II) complexes of 1-(2-aminoethylamino)-1-deoxy-D-galactitol", *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1997, 2125-2130.

Magyar nyelven:

- 7b) Gyurcsik B., Gajda T., Jancsó A., Lammers H., Nagy L., "Az N-(2-aminoetil)-D-galaktamin proton, réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplexeinek egyensúlyi- és oldatszerkezet-vizsgálata", *Magy. Kém. Foly.*, 1998, 104, 67-76.

- 8) Gábor Peintler, István Nagypál, Attila Jancsó, Irving R. Epstein, Kenneth Kustin, "Extracting experimental information from large matrixes. 1. A new algorithm for the application of matrix rank analysis", *J. Phys. Chem. A*, 1997, 101, 8013-8020.

- 9a) Attila Jancsó, László Nagy, Erlend Moldrheim, Einar Sletten, "Potentiometric and spectroscopic evidence for co-ordination of dimethyltin(IV)²⁺ to phosphate groups of DNA fragments and related ligands", *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1999, 1587-1594.

Magyar nyelven:

- 9b) Jancsó A., Nagy L. Moldrheim E., Sletten E., "Nukleinsav fragmensek és rokon ligandumok foszfát csoportjai és a (CH₃)₂Sn(IV)²⁺ kölcsönhatásának igazolása potenciometriás és spektroszkópiás módszerekkel", *Magy. Kém. Foly.*, 2000, 106, 414-426.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Kiss Tamás tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy számomra lehetővé tette a doktori munka elvégzését Tanszékünkön.

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Gajda Tamás egyetemi docensnek, témavezetőmnek, aki egyetemi hallgató korom óta figyelemmel kísérte munkámat, s megismertetett a kémiatudomány egy rendkívül érdekes területével, a bioszervetlen kémiai modellezéssel. Segítségével számos koordinációs kémiai vizsgálati módszerben szerezhettem jártasságot, munkámat mindvégig hasznos konzultációkkal és hozzáértő szakmai tanácsokkal támogatta.

Szeretném megköszönni Gyurcsik Béla egyetemi adjunktus munkámat mindig előremozdító segítségét és tanácsait.

Köszönettel tartozom Evanics Ferencnek, Bernard Henry-nak és Patrice Rubini-nek az NMR-, Rockenbauer Antalnak és Korecz Lászlónak az ESR- és Vankó Györgynek a Mössbauer-spektrumok felvételekor nyújtott segítségével. Ugyancsak köszönet illeti Satu Mikkola-t és Harri Lönnberg-et a HPLC-s mérések során nyújtott hasznos tanácsaiért.

Köszönöm Nagy Ferencné és Szűcsné Tóth Katalin technikusoknak a laboratóriumi munkában nyújtott értékes segítségüket.

A disszertáció alapját képező kutatásokat az Országos Tudományos Kutatási Alap (OTKA T025114), az Oktatási Minisztérium (FKFP-0013/1997 és FKFP-0109/2000) valamint a "Balaton" Magyar-Francia Kormányközi Tudományos és Technológiai Program (Ref. F-8/97) támogatta.

A doktori disszertáció elkészítéséhez a *SOROS ALAPÍTVÁNY Doktorandusz programja* nyújtott támogatást egyéves ösztöndíjával.